Aus der Abteilung Dermatologie II
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. W. Adam
der Hautklinik der Universität Tübingen

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ZUR DIFFERENZIERUNG VON TRICHOPHYTON RUBRUM UND TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard–Karls–Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

ULRICH SCHMID
aus Tübingen

1978

Aus der Abteilung Dermatologie II
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. W. Adam
der Hautklinik der Universität Tübingen

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ZUR DIFFERENZIERUNG VON TRICHOPHYTON RUBRUM UND TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard–Karls–Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
ULRICH SCHMID
aus Tübingen

1978

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Professor Dr. H.-E. Hoffmeister
1. Berichterstatter:	Professor Dr. W. Adam
2. Berichterstatter:	Professor Dr. G. Polemann

FOTO - SCHNELLDRUCK Hans - Joachim Köhler - 74 TÜBINGEN - Neue Strasse 11

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG S. 7

2. LITERATURÜBERSICHT S. 11

2.1 Variationen und Pleomorphismus S. 11

2.2 Systematische Einordnung und Klassifizierung S. 13

2.3 Mögliche Differenzierungen von Trich.rubrum und Trich.ment. S. 20

3. MATERIAL UND METHODIK S. 29

3.1 Verwendete Differenzierungstests S. 29

3.2 Materialgewinnung S. 29

3.3 Zusammensetzung und Bereitung der Nährmedien S. 31

3.4 Versuchsdurchführung S. 37

3.5 Versuchskriterien S. 41

4. ERGEBNISSE S. 48

4.1 Morphologische Beurteilung S. 48

4.2 10 % - Peptonwassertest nach Götz S. 57

4.3 4 % - Glucose - 1 % - Peptonwassertest S. 62

4.4 Ureasetest nach Philpot S. 67

4.5 Lipasetest nach Böhme S. 70

4.6 Wachstumshemmung auf 5 % - Propandiol - 1,2 - Kimmig-Agar S. 72

4.7 Kartoffel - Glucose - Agar S. 75

4.8 Haarperforationstest nach Ajello und Georg S. 79

4. 9 Verhalten der "atypischen" (nicht eindeutig einzuordnenden) Stämme S. 82

4.10 Vergleich der Einzelergebnisse S. 84

5. DISKUSSION S. 95

6. ZUSAMMENFASSUNG S. 113

7. LITERATURVERZEICHNIS S. 117

TABELLEN:

Tab. I S. 10
Tab. II S. 16
Tab. III S. 18
Tab. IV S. 19
Tab. V S. 53
Tab. VI S. 61
Tab. VII S. 66
Tab. VIII S. 69
Tab. IX S. 69
Tab. X S. 74
Tab. XI S. 78
Tab. XII S. 81
Tab. XIII S. 83
Tab. XIV S. 86
Tab. XV S. 86
Tab. XVI S. 87
Tab. XVII S. 88
Tab. XVIII S. 92
Tab. XIX S. 94

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

In den letzten Jahren wurde bei Arbeiten über die Häufigkeit der wichtigsten Pilzarten im dermatologischen Untersuchungsmaterial (Tab. I) festgestellt, daß die hautpathogenen Pilze Trichophyton rubrum (Trich.rubrum) und Trichophyton mentagrophytes (Trich.ment.) als häufigste Erreger bei Mykosen vorkommen. Ihr Anteil an den aus den Krankheitsherden gezüchteten Dermatophyten beläuft sich nach BLASCHKE-HELLMESSEN (15) auf ca. 95 %; dabei entfallen 75 % auf Trich.rubrum und 20 % auf Trich.ment. Auffällig an den in den letzten Jahren gefundenen Werten ist das gehäufte Auftreten von Trich. rubrum und die damit verbundene Verschiebung des Verhältnisses zu Trich.ment. War früher Trich.ment. fast ausschließlich d e r Erreger von oberflächlichen Dermatomykosen, so hat heute Trich.rubrum diesen Platz eingenommen (Tab. I). FEGELER (32) und GÖTZ (44) sind der Meinung, daß diese Verschiebung der Relation zugunsten des Trich.rubrum nicht nur epidemologisch (etwa durch Einschleppung aus tropisch-subtropischen Ländern), sondern insbesondere durch biologische Eigenschaften der Pilze sowie verbesserte Untersuchungstechnik zu erklären ist.

Eine Unterscheidung dieser beiden Pilze ist auf Grund des klinischen Befundes und des im parasitären Stadium gezeigten Bildes nicht möglich. Somit kann eine

Trennung nur anhand ihrer unterschiedlichen morphologischen Merkmale und Stoffwechselleistungen erfolgen.

Aus der Vielzahl der in der Literatur vorgeschlagenen Differenzierungsmöglichkeiten von Trich.ment. und Trich.rubrum wurden für die vorliegende Arbeit 7 verschiedene Methoden verwendet - davon 4 der gebräuchlichsten -, die zunächst getrennt von der morphologischen Beurteilung durchgeführt wurden. Ziel dieser Untersuchungen war, die im Laboratorium gezüchteten Stämme von Trich.ment. und Trich.rubrum auf Grund ihrer makro- und mikromorphologischen Kriterien entsprechend einzuteilen, diese Einordnung mit den verschiedenen Differenzierungstests zu überprüfen und diese Tests wiederum untereinander in ihrer Aussagekraft und Wiederholbarkeit zu vergleichen. Hierbei sollte vor allem versucht werden, die Identifizierung sowohl typischer als auch atypischer Trich.ment.- und Trich.rubrum-Stämme mit möglichst vielen Methoden vorzunehmen und durch Vergleich der erhaltenen Ergebnisse zu einer systematischen Einordnungsmöglichkeit zu den verschiedenen Stämmen zu gelangen. Insbesondere interessierte noch die Frage, inwieweit die verschiedenen Differenzierungstests in ihren Reaktionen reproduzierbar sind und untereinander korrelieren. Es soll ferner anhand der gewonnenen Aussagen der Testreihen der Versuch gemacht werden, eine zur Identifizierung von Trich.rubrum

und Trich.ment. mögliche und zweckmäßige Methodik vorzuschlagen, die im Routinebetrieb des mykologischen Laboratoriums ohne allzu großen Aufwand eine möglichst genaue Bestimmung dieser beiden Arten zuläßt.

TABELLE I

Häufigkeit von Trich.rubrum und Trich.ment. im dermatologischen Schrifttum einiger Autoren

				T.r. %	T.m. %	T.r. : T.m.
1926-28	Hamburg	KARRENBERG	(33) +	2	6	1 : 3
1925-28	Münster	SCHMIDT	(33) +	1	73	1 : 73
1939	Berlin	ZONDEL	(33) +	35	53	1 : 1,5
1948-50	Hamburg	GÖTZ	(33) +	63	29	2,2 : 1
1952-54	Oberbaden	PFISTER	(33) +	29	71	1 : 2,4
1952-54	Berlin	GRIMMER	(33) +	28,4	70	1 : 2,5
1954-56	Berlin	GRIMMER	(33) +	70	30	2,3 : 1
1948-50	Schweiz	BLANK	(33) +	39,2	54,5	1 : 1,4
1951	Schweiz	AMREIN	(33) +	33	60	1 : 1,8
1946-49	Großbritannien, Nordirland	WALKER	(33) +	36,1	44,5	1 : 1,2
1951-55	Hamburg	RIETH	(33) +	38	60	1 : 1,6
1953-57	Münster	FEGELER	(33) +	46,7	51,8	1 : 1,1
1945-56	Essen	KOCH	(82)	6,6	93,1	1 : 14,1
1961	Münster	FEGELER	(34)	38,9	51,3	1 : 1,3
1961-64	Dresden-Stadt	HERING	(15)	85,1	13,5	6,3 : 1
1961-65	Rostock	KABEN	(54)	54,3	31,3	1,7 : 1
1961-64	Dresden-Bezirk	BLASCHKE-HELLMESSEN	(15)	65,5	15,5	4,2 : 1
1962-63	Essen	REICHENBERGER	(82)	63,3	27,1	2,3 : 1
1963	Bundeswehr	RIETH, et AL.	(91)	58,0	36,7	1,6 : 1
1962-63	Erfurt	KOCH	(59)	56,5	24,5	2,3 : 1
1962-64	Berlin	BÖHME	(17)	79,8	10,5	7,6 : 1
1962	Magdeburg	BRAUN + KRENTEL	(21)	8,9	73,8	1 : 8,3
1962-65	Berlin	KRIESTER + KADEN	(63)	80,8	16,3	4,9 : 1
1962-67	Ostoberlausitz	BLASCHKE-HELLMESSEN	(15)	74,6	19,5	3,8 : 1
1961-68	Jerusalem	GANOR	(40) ++	81,3	18,7	4,3 : 1
1961-72	Halle	FRIEDRICH-HEISE	(37)	79,9	17,5	4,6 : 1
1962-71	Portugal	CABRITA-FIGUEIREDO	(22) ++	63,0	37,0	1,7 : 1
1963	Halle	FRIEDRICH + KRUSE	(38)	76,7	19,1	4,0 : 1
1963	Dresden-Stadt	KLEINE-NATROP	(57)	71,5	24,3	2,9 : 1
1963-64	Zwickau	HÖFER + WOHLFARTH	(50)	44,7	31,6	1,4 : 1
1963-66	Ostslowakei	KACHNIC	(55)	73,7	21,0	3,5 : 1
1967	Würzburg	VELTMANN	(105)	28,5	60,3	1 : 2,1
1967	Bonn	VELTMANN	(105)	29,7	63,6	1 : 2,1
1968	Graz	WEITGASSER	(110)	69,7	25,8	2,7 : 1
1969-71	Graz	WEITGASSER	(109)	82,8	11,7	7,1 : 1
1973	Bundeswehr	HEBER, REINEL, VOGEL	(48) +	73,9	14,4	5,1 : 1

+ : proz. Verhältnisse bei Berücksichtigung von Trich.interdig., Trich.rubrum und Epidermophyton floccosum

++: proz. Verhältnisse ausschließlich von Trich.ment. und Trich.rubrum

2. LITERATURÜBERSICHT

Die im Routinebetrieb eines mykologischen Laboratoriums auftretenden Schwierigkeiten bei der Identifizierung von Trich.rubrum und Trich.ment. spiegeln sich in der Vielfältigkeit und Verschiedenheit der Schriften zu dieser Problematik wider - sei es nun in der Variation des Pilzwachstums, in der Schwierigkeit der Einordnung der Pilze in eine entsprechende Systematik oder aber in der Breite der zur Differenzierung angebotenen Möglichkeiten.

Ein kurzer Überblick im bis heute gültigen Schrifttum soll versuchen, die vielen Gedanken und Meinungen zu diesem Problemenkreis verständlicher zu machen.

2.1 Variationen und Pleomorphismus

Die Schwierigkeiten der Trennung beginnen schon in der mehr oder weniger großen Neigung zur Variabilität bestimmter Merkmale während des saprophytären Wachstums. Dieses Auftreten von Variationen und pleomorphen Veränderungen veranlaßten ITO und RIETH (52, 53) zur Formulierung des "Gesetzes der Variabilität der Dermatophyten": Gleiche Pilze können verschiedene und verschiedene Pilze gleiche Krankheitsbilder auslösen.

Viele Autoren (13, 28, 41, 49, 56, 84, 94, 102) sind der Ansicht, daß die Variationsbreite der Dermatophyten, besonders die von Trich.rubrum und Trich.ment. recht groß ist. Geringfügige Änderungen des Nährmediums können das makroskopische und mikroskopische Erscheinungsbild im saprophytären Stadium beeinflussen (56, 71, 94, 101, 102).

UECKERT und RÖHRBORN (102) weisen deshalb darauf hin, daß man zur systematischen Klassifizierung der Dermatophyten mehrere standardisierte Nährböden benutzen muß, will man nicht Gefahr laufen, unterschiedliche Modifikationen einer Art als verschiedene Arten zu klassifizieren. EMMONS (28), GRIGORAKIS (45), RIETH (90) und PALDROK (76) sind ferner der Ansicht, daß Variationen der Pilze auch schon im parasitären Stadium möglich sind und somit einige Dermatophyten bereits in der Primärkultur im pleomorphen Zustand angetroffen werden können. Der Grund für derartige Veränderungen wird in bestimmten Terrainfaktoren bzw. Nährmedien vermutet.

Von FEGELER (32) wurde die Frage aufgeworfen, ob Trich.rubrum nicht eine Variation von Trich.ment. sei. KOCH (60) brachte den Begriff der "physiologischen Rasse" in die Diskussion um die Klassifizierung und Systematik der Dermatophyten. Er geht

sogar noch einen Schritt weiter, indem er behauptet: "Als physiologische Rasse von Trich.ment. fassen wir Trich.rubrum auf..... Wir müssen daher feststellen, daß Trich.ment. und Trich.rubrum in allen wesentlichen morphologischen Eigenschaften übereinstimmen. Bestehende Unterschiede in makro- und / oder mikromorphologischer Hinsicht liegen innerhalb der Variationsbreite und sind sämtlich nicht konstant, nur die Häufigkeit einiger Merkmale (wie z.B. Anordnung und Form der Konidien, Bildung von Schraubenhyphen) ist unterschiedlich. Trich.rubrum ist als morphologisch reduzierte, in physiologischer Hinsicht hoch spezialisierte Rasse von Trich.ment. anzusehen. Zusammenfassend kann gesagt werden, daß unsere heutige Vorstellung über die Fassung des Artbegriffes bei den Dermatophyten revisionsbedürftig erscheint."

2.2 Systematische Einordnung und Klassifizierung

Bis heute herrscht noch keine Einstimmigkeit in der systematischen Zuordnung der Pilze. Der Grund dürfte einerseits im Fehlen des wichtigen perfekten Stadiums einiger Dermatophyten zu suchen sein, andererseits aber brachte eine Einteilung nur nach ökologischen Gesichtspunkten nicht den erhofften Erfolg.

Viele Autoren beschäftigten sich mit einer ausreichenden Klassifizierung der Dermatophyten, von denen einige angeführt werden:

SABOURAUD (92):
Die Gattungen wurden nach den verursachten Krankheitserscheinungen, die Arten aber nach dem Verhalten des Pilzes in der Kultur aufgestellt.

GRIGORAKIS (45):
Die Eigenschaften des Pilzes im saprophytären Stadium, vor allem die ungeschlechtlichen Fruchtformen wurden gattungs- und auch artbestimmend.

CONANT (24):
Die Eigenschaften der Pilze im saprophytären Stadium wurden als Einteilungsprinzip für die Klassifikation in nur drei Gattungen benutzt (Tab. III).

LANGERON (67):
Die Einteilung erfolgte auch auf Grund des Verhaltens der Pilze im saprophytären Stadium, jedoch in fünf Gattungen, wobei die Gruppe der Ctenomyces in zwei Untergruppen unterteilt wurde (Tab. II).

EMMONS (29):
Eine Klassifizierung erfolgte nach Form der Mikro- und Makrokonidien.

AJELLO (2, 3):
Die Einteilung der Dermatophyten beruht auf dem von

ihnen bevorzugten Terrain in "anthropophil", "zoophil" und "geophil".

OTCENASEK, DVORAK (75):
Sie versuchen eine Klassifizierung der Dermatophyten nur nach ökologischen Standpunkten. Sie unterscheiden zwei Gruppen: saprotrophic (geophilic) dermatophytes und paratrophic (pathogenic) dermatophytes.

BALABANOFF (7):
Mit Hilfe von sieben, bei Arthroderma, Nannizia und ihren imperfekten Formen erkennbaren Adaptationsphasen versucht er, eine phylogenetisch geordnete Klassifizierung der Dermatophyten und ihnen verwandter Formen von Gymnoascaceen durchzuführen.

PALDROK (76):
Er gibt die bisherigen Gattungs- und Artbegriffe auf und sieht das jeweilige Entwicklungsstadium, in dem sich dieser Pilz gerade befindet, für den Ablauf der klinischen Erscheinung als entscheidend an. Er unterscheidet drei Stadien, zwischen denen es auch noch Übergänge gibt: die florentiforme, die rubriforme und die faviforme Phase. Die Artbestimmung des Pilzes ist nur im florentiformen Stadium möglich, da die Makrokonidien, nach denen eine Artbestimmung erfolgt, in den beiden anderen Stadien fehlen (Tab. IV).

TABELLE II

Einteilung der Dermatophyten nach
LANGERON und VANBREUSEGHEM (67, 86)

I. Gattung Ctenomyces

A. Gypseusgruppe

1. Ctenomyces mentagrophytes	ROBIN	1853
2. Ctenomyces asteroides	SABOURAUD	1909
3. Ctenomyces granulosus	SABOURAUD	1908
4. Ctenomyces persicolor	SABOURAUD	1910
5. Ctenomyces interdigitalis	PRIESTLEY	1917

B. Niveusgruppe

1. Ctenomyces radians	SABOURAUD	1909
2. Ctenomyces denticulatus	SABOURAUD	1910

II. Gattung Sabouraudites

1. Sabouraudites audouini	GRUBY	1843
2. Sabouraudites canis	BODIN	1902
3. Sabouraudites gypseus	BODIN	1907
4. Sabouraudites gallinae	MÉGNIN	1881
5. Sabouraudites langeroni	VANBREUSEGHEM	1950
6. Sabouraudites rivalieri	VANBREUSEGHEM	1951

III. Gattung Trichophyton

1.	Trichophyton tonsurans	MALMSTEN	1845
2.	Trichophyton sabouraudi	BLANCHARD	1895
3.	Trichophyton sulfureum	FOX	1908
4.	Trichophyton concentricum	BLANCHARD	1895
5.	Trichophyton quinckeanum	ZOPF	1890
6.	Trichophyton violaceum	BODIN	1902
7.	Trichophyton rubrum	CASTELLANI	1909
8.	Trichophyton ferrugineum	OTA	1921
9.	Trichophyton schoenleini	LEBERT	1843
10.	Trichophyton album	SABOURAUD	1909
11.	Trichophyton discoides	SABOURAUD	1909
12.	Trichophyton megnini	BLANCHARD	1895

IV. Gattung Langeronia

1.	Langeronia soudanensis	JOYEUX	1912

V. Gattung Epidermophyton

1.	Epidermophyton floccosum	HARZ	1870

TABELLE III

Einteilung der Dermatophyten nach CONANT (24, 86)

I. Gattung Trichophyton

A. Gypseumgruppe

1. Trichophyton mentagrophytes (ROBIN) BLANCHARD 1896

B. Rubrumgruppe

1. Trichophyton rubrum (CASTELLANI) SABOURAUD 1911

C. Crateriformegruppe

1. Trichophyton tonsurans MALMSTEN 1845
2. Trichophyton epilans BOUCHER u. MÉGNIN 1887
3. Trichophyton Sabouraudi BLANCHARD 1896
4. Trichophyton sulfureum SABOURAUD 1910

D. Faviformegruppe

1. Trichophyton Schoenleini (LEBERT) LANGERON u. MILOCHEVITCH 1930
2. Trichophyton concentricum BLANCHARD 1896
3. Trichophyton ferrugineum (OTA) LANGERON u. MILOCHEVITCH 1930
4. Trichophyton violaceum SABOURAUD 1902

E. Rosaceumgruppe

1. Trichophyton Mégnini BLANCHARD 1896

II. Gattung Microsporum

1. Microsporum Audouini		
	GRUBY	1843
2. Microsporum canis		
	BODIN	1902
3. Microsporum gypseum (BODIN)		
	GUIART u. GRIGORAKIS	1928

III. Gattung Epidermophyton

Epidermophyton floccosum (HARZ)		
	LANGERON u. MILOCHEVITCH	1930

TABELLE IV

Einteilung der Dermatophyten nach PALDROK (76, 86)

A. Nach Arten
Einzige Gattung: Microsporum
Arten:
1. Microsporum Audouini (früher M. canis)
2. Microsporum gypseum
3. Microsporum tonsurans (Trich.mentagrophytes)
Alle übrigen Typen werden als mehr oder weniger degenerative Stadien angesehen.

B. Nach Wachstumsstadien

1. florentiform:	vollständige Morphologie
2. rubriform:	wollige Rasenbildung, spärliche Fruktifikation oder lediglich sterile Hyphen
3. faviform:	glatt, feucht, gummiartig

Die in Amerika und in weiten Gebieten Europas gebräuchliche Systematik nach CONANT unterteilt die Gattung Trichophyton in Gruppen, die ähnliche Arten umfassen. So entspricht die Gypseumgruppe der Gattung Ctenomyces; das Trichophyton ("Epidermophyton") interdigitale (Kaufmann-Wolf-Pilz) ist identisch mit Trichophyton mentagrophytes. Das in manchen Kulturen vorkommende weiße, flaumige Wachstum wird als "Interdigitale-Typ" bezeichnet (86).

2.3 Mögliche Differenzierungen von Trich.rubrum und Trich.ment.

Die in den Gypseum- und Rubrum-Gruppen nach CONANT vorkommenden Dermatophyten Trich.ment. und Trich.rubrum zeigen sich aber nun nicht ganz so klar und sind auch nicht einfach voneinander zu trennen, da die Variationsbreite innerhalb der einzelnen Gruppe sehr groß und eine richtige Einordnung deshalb mit enormen Schwierigkeiten verbunden ist. Dieses Problem der Zuordnung und richtigen Einteilung in eine entsprechende Klassifizierung bleibt trotz aller angebotenen Systematiken bestehen, da der wichtigste Teil einer Artbestimmung - die Differentialdiagnose - noch unzureichend ausgearbeitet und erforscht ist. Es werden bis heute viele Möglichkeiten und Methoden an-

geboten, die aber alle mit sehr unterschiedlichem Erfolg in der Labordiagnostik verwendet werden und daher keinerlei Anspruch auf einwandfreie Trennung von Trich.rubrum und Trich.ment. erheben können.

Von den in der Literatur angebotenen Differenzierungsmöglichkeiten sollen einige der wichtigsten und häufigsten genannt werden:

- Vitaminbedürfnisse -

Einige Trichophyton-Arten wie z.B. Trich. verrucosum, Trich.tonsurans und Trich.violaceum wurden von GEORG und CAMP (42) auf ihre Vitaminbedürfnisse überprüft. Sie stellten dabei u.a. eine Wachstumsstimulation durch Vitamin B_1 fest. Trich.ment. und Trich.rubrum wuchsen auf mit Vitamin angereicherten Nährböden genauso gut wie auf vitaminfreien Nährböden. Somit konnte eine Trennung auf Grund der unterschiedlichen Vitaminbedürfnisse beider Arten nicht gefunden werden.

- Farbstoffbildung -

Sehr ausgiebig wurde auch die Farbstoffbildung im Agar untersucht. Sie veranlaßte viele Autoren,

einen Nährboden zu entwickeln, der nur Trich. rubrum Farbstoff bilden läßt. LEWIS und HOPPER (68) berichteten über die Wirkung von Zucker im Nährboden und bei der Pigmentbildung. Zuerst EDGECOMBE (27), später dann BÖHME und FRIEDRICH (19) stellten fest, daß Trich.rubrum auf Kartoffel-Glucose-Agar deutlich roten Farbstoff produziert. BAXTER (10) schlägt einen Lab-Lemco-Glucose-Agar zur Pigmentstimulation vor. Von vielen Autoren wurde auch der Mais-Mehl-Glucose-Agar empfohlen, da auf diesem Nährboden die meisten Trich.ment.-Stämme keinen roten Farbstoff bilden sollen, so z.B. von BENHAM (12), BOCOBO und BENHAM (16), CONANT (24), HAZEN und REED (47).

Andererseits gibt es aber Trich.ment.-Stämme, die zur Bildung von rotem Farbstoff befähigt sind, und Trich.rubrum-Stämme, die keinen Farbstoff mehr bilden und somit anhand der o.g. Nährböden fehlidentifiziert werden können. Eine Inhibition des roten Pigments von Trich.rubrum und eine Stimulation des braunen durch Trich.ment. auf Agar mit Zusatz von Pheniramin wird von REISS und CAROLINE empfohlen (83).

LANDAY und DYSON (65) erschien eine Bestimmungsmethode auf Grund der Farbstoffbildung bis heute noch nicht zuverlässig genug.

- Immunodiffusion und Immunofluoreszenz -

DYSON und LANDAY (26) glauben eine Möglichkeit gefunden zu haben, mit Hilfe serologischer Verfahren Trich.ment. und Trich.rubrum trennen zu können. Dieser mit Antiseren gemachte Versuch der Immunodiffusion und Immunofluoreszenz wird von THURNER und KAPLAN (100) in seiner Aussagekraft stark eingeengt, wenngleich auch sie die Häufigkeit der richtigen Ergebnisse als ausreichend bezeichnen.

- Griseofulvin - Sensitivitätstest -

Die relative Empfindlichkeit von Trich.ment. und Trich.rubrum gegenüber Griseofulvin in vitro ist unterschiedlich groß. RIETH (88), OTCENASEK und DVORAK (74), LOEFFLER (69), ADAM (1) empfehlen neben einigen anderen Autoren den Empfindlichkeitstest bei der Differentialdiagnostik der beiden Arten.

- Erfahrungen von BALABANOFF -

BALABANOFF (8) schlägt zur Differenzierung von Trich.ment. und Trich.rubrum Löffler-Serum, Methylenblau-Milch, Gelatine, Stärkelösung und Dextrosebouillon nach SABOURAUD vor.

- Enzyme -

Eine besondere Bedeutung kommt dem Nachweis von Enzymaktivitäten der Pilze zu. Neben vielen Autoren (u.a. 11, 25, 51, 106, 108) sind auf dem Gebiet der Erforschung von Ekto- und Endo-Enzymen der Dermatophyten TATE (98), CHATTAWAY und BARLOW (23), BENHAM (12), STOCKDALE (97), MALLINCKRODT-HAUPT (70) und vor allem in letzter Zeit BÖHME und ZIEGLER zu nennen, wobei sich letztgenannter mit seinen Mitarbeitern sehr intensiv mit den Enzymaktivitäten der Pilze beschäftigte und darüberhinaus auch über polyenzymatische und gekoppelte enzymatische Fähigkeiten der Dermatophyten berichtet (20, 113, 114, 115, 116, 117, 118). Bisher konnten Amylasen, Pektinasen, Zellulasen, Lipasen, Phosphatasen, Peptidasen (Proteinasen) und Keratinasen nachgewiesen werden.

Als Nachweis für unterschiedliche Enzymaktivitäten von Trich.rubrum und Trich.ment. dienen bis jetzt der Ureasetest nach PHILPOT (77), der Lipasetest nach BÖHME (18) und die keratinolytische Aktivität nach AJELLO und GEORG (4). Unter diesen ist die keratinolytische wohl mit Abstand am häufigsten und intensivsten untersucht worden.

VANBREUSEGHEM (103, 104) und später AJELLO und

GEORG (4) fanden, daß Trich.rubrum unfähig war, Haarkeratin in vitro in Form sog. Perforationen abzubauen. Dieser Perforationstest wurde von einer großen Anzahl von Autoren nachgeprüft und in den meisten Fällen in seiner Brauchbarkeit bestätigt, von manchen sogar als verläßlichste der bisher gebräuchlichen differentialdiagnostischen Methoden angesehen (26, 82).

Trotzdem ergaben bald Beobachtungen anderer Autoren, daß ganz typische Rubrum-Stämme bei der AJELLO'schen Methode Haarperforationen verursachten (30, 35, 36, 66, 107). THURNER (99) versucht zwar, diese "Ausnahmen" als - auf Grund mangelhafter Diagnosestellung - falsch identifizierte Trich.rubra zu erklären; doch sind in diesem Zusammenhang die Untersuchungen von BARLOW und CHATTAWAY (9) zu erwähnen, die beweisen, daß Trich.rubrum prinzipiell imstande ist, Perforationsorgane zu bilden, und dieses Zustandekommen sehr stark von dem zur Verfügung stehenden Haarkeratin abhängig ist (5, 6, 30, 39, 99, 107).

- Morphologische Beurteilung -

Einen großen Raum bei der Unterscheidung von Trich.rubrum und Trich.ment. nimmt auch die makro-

skopische und mikroskopische Beurteilung der Pilzkulturen ein, sind sie doch die ersten Kriterien auf dem Nährmedium bei positivem Befund, während eine Untersuchung des entnommenen Materials nur im Nativpräparat mit KOH oder Parkertinte nicht immer einen Befall mit einem Dermatophyten sicher zuläßt (40, 62, 78, 87, 93).

Eine Identifizierung nur anhand morphologischer Gesichtspunkte (Makrokonidien, Mikrokonidien, Hyphenform, accessorische Organe) hat sich in der Regel als schwierig und unzureichend herausgestellt, da immer wieder Stämme gefunden werden, bei denen die typischen Merkmale nicht deutlich genug vorhanden sind oder eine andere Einordnung verlangen. EDGECOMBE (27), BENHAM (12), sowie BÖHME und FRIEDRICH (19) haben zwar festgestellt, daß man auf Grund der Morphologie der Mikro- und Makrokonidien Trich.ment. von Trich.rubrum unterscheiden kann; so bildet Trich.ment. zahlreich runde bis birnenförmige Mikrokonidien, die meist in Haufen oder entlang der Hyphen sitzen, und kurze dicke und keulenförmige Makrokonidien, Trich.rubrum dagegen spärlich bis zahlreich lange und birnenförmige Mikrokonidien, die vorwiegend entlang der Hyphen und selten in Haufen sitzen, und schlanke, bleistiftförmige Makrokonidien. AJELLO und GEORG (4),

sowie DYSON und LANDAY (26) jedoch stellten fest, daß die Makrokonidien nicht immer die gleiche charakteristische Form haben und daher dieses Merkmal mit einigem Vorbehalt zu bewerten ist. So können die für Trich.ment. typischen Makrokonidien auch bei Trich.rubrum vorkommen und umgekehrt.

Weit weniger dagegen schwankt die Form der Mikrokonidien. So geben u.a. POLEMANN (78), BÖHME und FRIEDRICH (19) und BLASCHKE-HELLMESSEN (14) die Bestimmung von Trich.ment. und Trich.rubrum auf Grund ihrer charakteristischen Form der Mikrokonidien als die noch am ehesten mögliche an, wobei sie jedoch gleichzeitig auch die Überschneidungen und Unregelmäßigkeiten der zur Unterscheidung verwendeten Eigenschaften anzuführen nicht vergessen. LEWIS und HOPPER (68) z.B. sind der Ansicht, daß die Konidien nur selten zur Differenzierung brauchbar sind.

Somit bleiben am Ende der bisherigen Betrachtungen keine Aussagen über eine klare Methode zur Unterscheidung von Trich.rubrum und Trich.ment. unangefochten bestehen; sei es nun durch die Verschiedenartigkeit der Versuchsdurchführungen und Bestimmungen oder sei es durch die Auswahl der zu untersuchenden Pilzstämme - sehr oft wurden nur ganz typische Stämme bei der Auswertung der Versuchs-

ergebnisse berücksichtigt -, daß es zu unterschiedlichen Erfolgen bei der Bestimmung dieser zwei Stämme gekommen ist.

3. MATERIAL UND METHODIK

3.1 Verwendete Differenzierungstests

Für die Differenzierung von Trich.ment. und Trich. rubrum auf Grund physiologischer Eigenschaften wurden 7 verschiedene Untersuchungsmethoden mit den makro- und mikromorphologischen Kriterien verglichen. Untersucht wurden im einzelnen: Makro- und Mikromorphologie auf Grütz-Kimmig-Agar, Wachstum in 10 % - Peptonlösung und 4 % - Glucose-1 % - Peptonlösung, Urease- und Lipaseaktivität, Haarperforationsvermögen, Pigmentierung auf Kartoffel-Glucose-Agar, Wachstumshemmung auf Propandiol-Kimmig-Agar.

3.2 Materialgewinnung

Für die Untersuchungen wurden insgesamt 103 Pilz-Stämme verwendet, die bei Routineuntersuchungen im Sommer und Herbst 1975 in der Hautklinik Tübingen isoliert worden waren. Das Untersuchungsmaterial wurde folgendermaßen gewonnen: Abreiben der Abnahmestelle mit 70 % Alkohol, entfernen stark mazerierter Hautteile, Entnahme aus dem befallenen Hautbezirk mit sterilem Skalpell oder scharfem Löffel, bei Nägeln mit sterilen Feilen oder Ras-

peln, exzidierte Nägel wurden zerkleinert.

Das Untersuchungsmaterial stammte aus:
ZZR 41,5 %, Nagelteile 29 %, inguinal 9,5 %,
Fußsohle 8 %, Handfläche 4 %, Finger 3 %,
Wange 2 %, Fußrücken, Nase und Gesäß je 1 %.

Das Untersuchungsmaterial wurde zur Anlage von Primärkulturen auf Grütz-Kimmig-Agar mit Antibiotikazusatz gebracht, um das Wachstum von evtl. Bakterien, Hefen oder Schimmelpilzen zu unterdrücken. Zur Erhaltung von Reinkulturen wurden Platten mit Grütz-Kimmig-Agar ohne Antibiotika nach sichtbarem Dermatophytenwachstum beimpft. Die Überimpfung auf die jeweiligen Nährböden und -lösungen zur physiologischen Differenzierung von Trich.ment. und Trich.rubrum erfolgte von den Subkulturen.

Da in vielen Arbeiten über die Differenzierung und Erkennung verschiedener Trichophytien Nährmedien benützt, deren Zusammensetzung aber selten beschrieben werden, sollen die zur Anwendung gekommenen Nährböden und -lösungen eingehendst beschrieben werden.

3.3 Zusammensetzung und Bereitung der Nährmedien

3.3.1 Grütz-Kimmig-Agar (89)

Glucose	10,0
Mykopepton B (WITTE)	5,0
Glycerin	5,0
NaCl	5,0
Standard II Nährbouillon	15,0
Agar-Agar	17,0
Aqua dest.	ad 1000,0

Cycloheximid-Zusatz:
500 mg für einen Liter Nährboden.
(2 g Acti-dione in 40 ml Aceton lösen und 160 ml steril. Aqua dest. zusetzen. Davon 50 ml auf 1 Liter Nährboden).

Neomycin-Zusatz:
500 mg Neomycin auf 1 Liter Nährboden (500 mg von Neomycin werden in ca. 5 ml ster. Aqua dest. gelöst und dem verflüssigten Nährboden bei ca. 56° (1000 ml) kurz vor dem Gießen der Platten zugesetzt).

Subkulturen:
Gleicher Nährboden, jedoch ohne Zusatz von Antibiotika.

3.3.2 10 % - Peptonlösung nach GÖTZ (43)

Mykopepton B (WITTE)	100,0
Aqua dest.	1000,0

Jedes Reagensglas wurde mit ca. 8 cm^3 abgefüllt und nach Verschluß mit einem Zellstoffpfropfen im Autoklaven sterilisiert.

3.3.3 4 % - Glucose - 1 % Peptonlösung nach ZIPRKOWSKI (119)

Glucose	40,0
Mykopepton B	10,0
Aqua dest.	1000,0

Jedes Reagensglas wurde mit ca. 8 cm^3 abgefüllt und nach Verschluß mit einem Zellstoffpfropfen im Autoklaven sterilisiert.

3.3.4 Kartoffel - Glucose - Agar (73)

Verwendet wurde der von MERCK angebotene Fertignährboden (Art. 10130).

Kartoffelinfus	
(Infus aus 200 g Kartoffeln)	4,0

Glucose	20,0
Agar - Agar	15,0

39 g werden in 1 Liter Aqua dest. gelöst, im Autoklaven sterilisiert und mit NaOH auf pH = 6,5 eingestellt.

Andere Möglichkeiten der Herstellung werden von EDGECOMBE und von RIVALIER/SEYDEL genannt.

3.3.5 Ureasetest - Agar nach PHILPOT (77)

Pepton	1,0
NaCl	5,0
$KH_2\ PO_4$	2,0
Dextrose	5,0
Agar	20,0
Aqua dest.	ad 1000,0

heiß lösen, dazu 6,0 ml Phenolrotlösung (0,2 % in Äthanol 50 %ig), 15 min. bei 120° C autoklavieren, auf 50° C abkühlen und 100,0 ml Harnstofflösung (20 %ige wässerige Lösung steril filtriert) zugeben. Kulturen bei 25° C stehen lassen.

3.3.6 Lipasetest - Agar nach BÖHME (18)

Oleum pedum tauri		1,0
Gummi arabicum		0,1 (-0,5)
$(NH_4)_3\ PO_4 \times 3\ H_2O$		0,7
NaCl		0,3
KCl		0,4
$CaCl_2 \times 6\ H_2O$		0,1
$MgSO_4 \times 7\ H_2O$		0,1
Nilblau		0,004
Agar-Agar		2,0
Aqua dest.	ad	100,0

pH der Nährlösung: 7,0 bis 7,5

Fett unter Zusatz von Gummi arabicum in einem Teil der Nährlösung emulgieren, dem Rest der Nährlösung vor dem Sterilisieren zusetzen. Die fertigen Nährböden haben eine blaßviolette bis graurote Färbung, Fetttropfen sind rot gefärbt.

3.3.7 Haarperforationstest nach AJELLO und GEORG (4)

Das Haar stammte von einem neunjährigen Mädchen (zu 70 %) und einem 24 jährigen Mann. Es wurde nur blondes oder hellbrünettes Haar verwendet, das noch nie kosmetischer Behandlung ausgesetzt war.
Die Haare wurden gründlich mit Seife gewaschen, getrocknet, in etwa 10 mm lange Stückchen zerschnitten und sorgfältig durchgemischt, sodaß jede Probe eine möglichst einheitliche Mischung der verschiedenen Haarqualitäten enthielt.
Anschließend wurden die Haare in Petri-Schalen bei 1,2 atü 20 Min. lang autoklaviert. In sterile Petri-Schalen wurden 10 ml steriles Aqua dest. abgefüllt und dazu 2 Tropfen einer Hefeextraktlösung (Bacto-Supplement) gegeben; Mycelteilchen wurden aus der 14 Tage alten Subkultur dazugegeben und mit einer Lage sterilisierter Haare überschichtet (ca. 30 - 40 Stück). Die Präparation der Haare zur Befunderhebung erfolgte mit Lacto-Phenolblau wegen dessen aufhellender Wirkung.

3.3.8 Zugabe von 5 % Propandiol - 1,2
zum Kimmig-Agar (85)

Herstellung des Kimmig-Agar siehe unter 3.3.1 mit Zusatz von 50 ml Propandiol - 1,2 ad 1000,0 ml Lösung.

3.4 Versuchsdurchführung

Das vom Patienten stammende Untersuchungsmaterial wird auf eine Kimmig-Agar-Platte mit Antibiotika-Zusatz gebracht. Auf diesen Platten wird das Bakterien- und Schimmel-Wachstum sehr stark unterdrückt, was dem Pilzwachstum wegen seiner langen Wachstumsperiode förderlich ist. Das genügend große Pilzmycel wird von der Primärkultur zur Erhaltung einer Reinkultur auf 2 Kimmig-Agar-Platten ohne Antibiotika-Zusatz überimpft. Während die eine Platte zur Beurteilung der makro- und mikroskopischen Merkmale diente, erfolgten von der anderen Platte die Überimpfungen auf die jeweiligen Nährböden und -lösungen nach ausreichendem Wachstum des jeweiligen Stammes. Die morphologische Beurteilung erfolgte nach 14 Tagen. Die mikroskopischen Merkmale wurden auf zweierlei Arten abgelesen: das Luftmycel wird zuerst direkt unter dem Mikroskop beurteilt, anschließend wird ein Tesa-Abklatsch-Präparat über die Kolonie gemacht. Der durchsichtige Tesa-Streifen wird leicht auf das Luftmycel aufgedrückt und dann auf einen Objektträger mit einem Lacto-Phenolblau-Tropfen gebracht, und unter dem Mikroskop betrachtet. Dadurch wird auch eine Beurteilung des Mycel-Zentrums möglich,

was bei bloßer Betrachtung durch das Mikroskop auf Grund des dichten Wachstums nicht möglich ist.

Zur Beurteilung wird das mikroskopische Bild ohne Tesa-Abstrich benutzt, bei schwieriger Einordnung jedoch der Tesa-Abstrich zur endgültigen Klärung herangezogen.

Die Überimpfung auf die Nährmedien zur Differenzierung von Trich.rubrum und Trich.ment. findet ausschließlich aus der anderen Subkultur auf Kimmig-Agar statt, wobei nur das Luftmycel, aber kein Nährboden überimpft werden soll. Sämtliche Nährböden werden in Petri-Schalen gegossen. Diese Platten werden an zwei Stellen beimpft. Im Laufe der Versuchsdurchführung stellte sich beim Kartoffel-Glucose-Agar eine Beimpfung an drei Stellen zur Verdeutlichung der charakteristischen Merkmale als geeigneter heraus. Bei den Nährlösungen erfolgte die Beimpfung jedes Röhrchens in der Weise, daß die annähernd gleich großen Kulturteilchen mit einem Platinhaken in Flüssigkeit eingetaucht und abgestreift werden.

Die Bebrütung aller in dieser Arbeit verwendeten Nährmedien erfolgte bei 28^{o} C im Brutschrank.

Sämtliche Versuchsreihen wurden zweimal durchgeführt mit Ausnahme des Propandiolversuchs, der nur einmal wegen Schimmelbefall einiger Subkultur-Platten durchgeführt werden konnte, und des Haarperforationstests, da das zur Verfügung stehende Haarmaterial nur eine einmalige gleichwertige Versuchsreihe erlaubte. Mit ungefähr der Hälfte der Stämme wurde dieser Test allerdings mit anderem Haarmaterial wiederholt, um dadurch u.U. eine Aussage über das benutzte Haarkeratin zu erhalten.

Nach Aufzeichnung all der in dieser Arbeit gewonnenen Resultate wurden die Ergebnisse der Differenzierungstests zunächst im einzelnen mit der morphologischen Beurteilung und danach untereinander verglichen, mit dem Ziel, die morphologische Beurteilung entweder in ihrer Aussage zu bestätigen oder zu korrigieren.

Die in der Literatur angeführten Nährböden und -lösungen differieren z.T. sehr in ihrem Ablesetermin. Da aber der genauen Reaktionsdauer eine wichtige Bedeutung zukommt - so ist z.B. Trich. rubrum ebenfalls zu derselben Reaktion wie Trich. ment. befähigt, jedoch nach viel längerer Zeit -, sollen im folgenden der genaue Ablesetermin nach

der Überimpfung und das für das jeweilige Nährmedium charakteristische Merkmal näher beleuchtet werden.

3.5 Versuchskriterien

3.5.1 10 %ige - Peptonlösung nach GÖTZ

Das Wachstum von Trich.rubrum findet nach GÖTZ (43) stets auf dem Grunde der Nährlösung statt, während sich Trich.ment. nur auf der Oberfläche der Lösung entwickelt. Beurteilt wurde das Wachstum auf der Oberfläche, in der Schwebe zwischen Boden und Oberfläche und auf dem Grunde der Nährlösung nach 10 und 20 Tagen.
Der Ablesetermin nach 10 Tagen der Überimpfung wurde für das charakteristische Wachstum und die damit verbundene Einordnung als verbindlich genommen. Nach 20 Tagen wurde zusätzlich die Wachstumsform auf der Oberfläche der Nährlösung beurteilt, auch bei Stämmen, die sowohl auf dem Boden als auch auf der Oberfläche wuchsen. Für Trich.rubrum-Stämme charakteristisch waren Doppelringstruktur und halbkugelig bis glattes Mycelwachstum, für Trich.ment.-Stämme gefaltetes oder höckeriges Oberflächenwachstum.

3.5.2 4 % - Glucose - 1 % Pepton - Lösung

Die Kriterien für diese Nährlösung sind dieselben wie bei der 10 %igen Peptonlösung: Oberflächenwachstum von Trich.ment. und submerses Wachstum von Trich.rubrum.
Der genaue Ablesetermin war nach 3 Tagen. Zusätzlich wurde nach 10 bis 20 Tagen die Wachstumsform auf der Oberfläche nochmals überprüft und wie bei der GÖTZ'schen Nährlösung entsprechend unterteilt.

3.5.3 Kartoffel - Glucose - Agar

Auf diesem Nährboden soll die Fähigkeit zur Pigmentbildung geprüft werden. Als Kriterium des Kartoffel-Glucose-Agars gilt für Trich. rubrum die Bildung von rot bis tiefrotem Pigment, Trich.ment. dagegen soll keine Pigmentierung zeigen (19, 27). Zusätzlich wurde das Oberflächenwachstum (z.B. flaumig, gipsig, kreisförmig, federartig, usw.) auf Besonderheiten überprüft und mit der Pigmentbildung entsprechend eingeordnet. Der Ablesetermin war nach 3 bis 4 Wochen.

3.5.4 Ureasetest - Agar nach PHILPOT

Anhand dieses Nährbodens soll das Vorhandensein eines bestimmten Enzyms, nämlich der Urease mit Hilfe eines Indikators gezeigt werden (77). Trich.ment. zeigt eine Rotfärbung des Nährbodens und damit eine positive Ureaseaktivität, während Trich.rubrum keine Veränderung der Nährbodenfarbe zeigt und somit sich negativ verhält. Entscheidend für die genaue Beurteilung war der Ablesetermin nach 6 Tagen.

3.5.5 Lipase - Test - Agar nach BÖHME

Wie der Ureasetest ist der Lipasetest nach BÖHME ein weiterer Enzymnachweis (18). Durch die Aktivität von Lipasen kommt es zur Freisetzung von Fettsäuren aus den vorgegebenen Fettsäureestern und dadurch zu einem Umschlag des Indikatorfarbstoffes. Da aber nur durch Trich.ment. Fettsäuren im Überschuß freigesetzt und somit Lipasen ausgeschieden werden, und sich bei Trich.rubrum freie Fettsäuren nicht oder höchstens im Impfpartikel nachweisen lassen, sind folgende Merkmale zu erkennen:

Unter dem Pilzrasen von Trich.ment. und in einem unterschiedlich breiten Saum um ihn herum färbte sich - je nach Pilzstamm - der ursprünglich grauviolette Nährboden ungefähr 14 Tage nach dem Beimpfen blau, in Kulturen von Trich.rubrum dagegen blieb die Farbe des Nährbodens unverändert oder entstand nur am Impfstück eine schwache Blaufärbung. Die von einigen Autoren (72) angegebene Ablesezeit von 6 Tagen erwies sich trotz verschiedener Versuchsdurchführungen mit unterschiedlichen pH-Werten als nicht ausreichend und erlaubte keine sichere Einteilung.

3.5.6 Haarperforationstest nach AJELLO und GEORG

Einige Dermatophyten produzieren keratinverwertendes Enzym - die Keratinase - und bilden auf Grund dieser Eigenschaften bestimmte Perforationsformen in Menschenhaaren. In diese Gruppe gehört Trich.ment., der in die Haare eindringt und Perforationszapfen bildet. Trich.rubrum soll nicht befähigt sein, dieses Enzym und damit auch keine Perforationen zu bilden (4). Abgelesen wurde nach 7, 14, 21 und 28 Tagen. Beurteilt

wurde die Häufigkeit der Perforationen und der befallenen Haare.

3.5.7 Wachstumshemmung auf Propandiol-Kimmig-Agar

Bei 5 %iger Zugabe von Propandiol zu Kimmig-Agar soll eine Wachstumshemmung von Dermatophyten eintreten (85). Trich.ment. bildet dabei eine ca. 1,5 cm große, feste, braungelbe Kultur mit orangebrauner Unterseite, Trich.rubrum dagegen eine nur 0,4 cm große, hellviolette, leicht erhabene Kultur. Das unterschiedliche Wachstum von Trich.ment. und Trich.rubrum auf Grund eines "Wachstumshemmers" ist also das entscheidende Merkmal dieses Nährbodens. Abgelesen wurde nach 2 und 4 Wochen. Der letzte Termin zeigte sich als der günstigere.

3.5.8 Morphologische Beurteilung

Wie schon anfangs erwähnt, wird den morphologischen Eigenschaften der Pilze große Bedeutung beigemessen; sind sie doch die ersten Kriterien, die sich uns bei entsprechendem Wachstum in der Primärkultur zeigen und

eine grobe Einstufung ermöglichen. Bei der Suche nach typischen Merkmalen, die eine Einordnung in die eine oder andere Gruppe bringen soll, ergaben sich für den einzelnen Stamm folgende Kriterien:

Trich.rubrum:

Makroskopisch:
flachflaumiges, in der Mitte hutförmig erhabenes Mycel (mit zentralem Knopf und radiären Furchen) oder flauschig halbkugeliges Luftmycel; oft deutliches, submerses Wachstum am Rande der Kolonie. Oberfläche weiß, nur manchmal mit rötlichem oder gelblichem Schimmer, ältere Kulturen zeigen oft deutliche Rot-Rosa-Färbung. Die Rückseite der Kolonie zeigt meist eine rötliche Färbung, bisweilen weinrot, rotschwarz, dunkelbraun oder schmutziggelb; im Zentrum oft blasser als am Rande, dadurch kokardenartige Ringe, oft auch nur in einzelnen Sektoren der Kolonie beobachtet.

Mikroskopisch:
dünne Hyphen ohne oder mit wenigen Mikrokonidien, manchmal aber auch sektorenweise

reichliches Vorkommen von Mikrokonidien, deren Form meist birnenförmig oder länglich, bisweilen auch rund ist. Meist entlang der Hyphen. Spiralhyphen im allgemeinen nicht vorhanden. Makrokonidien mit meist bleistiftförmiger Form, vereinzelt bis viele.

Trich.ment.:

Makroskopisch:
flaches, sandiges oder flaumiges Luftmycel, später pulverig bis gipsig. Oberfläche weiß, cremefarben oder gelblich, selten zartrosa oder blaßbraun. Rückseite der Kolonie im Zentrum meist braun bis rotbraun, zum Rande hin blasser werdend.

Mikroskopisch:
massenhaft Mikrokonidien, überwiegend rundes, manchmal längliches oder piriformes Aussehen, häufig in Clusters, zum Teil auch entlang der Hyphen angeordnet. Öfters Vorkommen von Spiral- und Schraubenhyphen. Makrokonidien meist keulenförmig, vereinzelt bis sehr viele.

4. ERGEBNISSE

4.1 Morphologische Beurteilung:

Nach eigenen Erfahrungen geben Trich.rubrum- und Trich.ment.-Stämme auf Grund ihrer makro- und mikromorphologischen Eigenschaften in der Primärkultur schon in den meisten Fällen genügend Anhaltspunkte für die Unterscheidung beider Arten. Von den 103 zu untersuchenden Stämmen entsprachen 73 Stämme dem typischen Trich.rubrum- und 26 Stämme dem typischen Trich.ment.-Typ in beiden Kriterien (s. Versuchskriterien). 4 Stämme verhielten sich unter diesem Gesichtspunkt atypisch: eines der beiden Kriterien stimmte mit dem anderen bezüglich einer einheitlichen Einordnung nicht überein.
Im folgenden sollen die typischen und atypischen Stämme entsprechend ihrer primär erfolgten Klassifizierung besprochen werden. Die einzelnen Kriterien sind der Tabelle V zu entnehmen.

4.1.1 Trich.rubrum-Stämme

Alle 73 Stämme waren auf Grund ihres morphologischen Erscheinungsbildes typische Trich. rubrum-Stämme. Von diesen Stämmen zeigten

37 flaumiges, halbkugeliges Mycel und 36 flachflaumiges, in der Mitte hutförmig erhabenes Mycel.

Bei 9 Stämmen konnten keine, bei 39 wenige und bei 25 nur sektorenweise reichlich Mikrokonidien gefunden werden, deren Form überwiegend länglich, oval oder tropfenförmig war. 38 Stämme zeigten mit Hilfe der "Tesa-Abklatsch-Mikroskopie" Makrokonidien. Ihre Form schwankte zwischen länglich, dünn, segmentreich und kurz, dick, segmentarm. Eine klare Unterscheidung und Trennung war nicht möglich und erlaubte daher keine eindeutige Aussage, manchmal waren sogar beide Formen bei einem einzigen Stamm zu beobachten. Bei keinem der 73 Trich.rubrum-Stämme konnten Spiralhyphen gefunden werden.

Erwähnenswert unter diesen Stämmen sind 3 mit besonderer Wuchsform:

1 Stamm zeigte flachflaumiges, in der Mitte hutförmig erhabenes Mycel. Das erhabene Zentrum zeigte ein weißliches Aussehen, die flache Randzone aber ein gelblich-oranges Mycel mit kräftig orangefarbenem, in den Nährboden hineindiffundierendem Pigment. Mikrokonidien waren sektorenweise reichlich vorhanden mit meist ovaler Form. Auffällig war das geradezu

haufenweise Auftreten von länglichen, segmentreichen Makrokonidien. Entnommen wurde das Material der Fußsohle einer Frau.

Die beiden anderen auffälligen Stämme zeigten melanoide Pigmentbildung: Beide besaßen flaumiges, halbkugeliges Luftmycel mit hellbrauner bis schmutzig-brauner Oberfläche; im Nährboden entstand um die Kolonien eine breite dunkelbraune Zone, die flüssigen Substrate färbten sich ebenfalls tiefbraun. Bei einem Stamm konnten keine Mikrokonidien festgestellt werden, der andere hatte nur vereinzelt mit überwiegend oval bis länglicher Form. Makrokonidien wurden bei beiden nicht beobachtet. Beide Stämme entsprechen in ihren Kriterien dem in letzter Zeit schon des öfteren gefundenen melaninbildenden Trich. rubrum (31, 54, 58, 96, 111).
Ohne auf die spezifischen Differenzierungstests schon vorab eingehen zu wollen, sollte an dieser Stelle erwähnt werden, daß beide Stämme in allen Tests das für Trich.rubrum zutreffende, charakteristische Verhalten zeigten. Entnommen wurden sie aus dem inguinalen und dem Zwischen-Zehen-Bereich.

4.1.2 Trich.ment-Stämme

26 typische Trich.ment.-Stämme wurden gefunden. 21 davon hatten eine sandig-gipsige und 5 eine flachflaumige Oberflächenstruktur. 18 Stämme zeigten reichlich Mikrokonidien, bei 8 Stämmen waren diese nur sektorenweise reichlich vertreten, wobei ihre Form überwiegend rund, manchmal jedoch auch oval war. Spiralhyphen konnten nur bei 13 Stämmen gefunden werden. Bei 14 Stämmen wurden Makrokonidien mit unterschiedlicher Form gesehen: kurze, dicke und wenig segmentierte waren ebenso vorhanden wie längliche, bleistiftartige mit vielen Segmenten.

Auffällig verhielt sich ein Stamm, der ca. 3 Wochen nach der Überimpfung eine deutliche mittelbraune, vom ursprünglichen Ton des Nährbodens eindeutig zu unterscheidende Pigmentierung rund um die Pilzkolonie zeigte. Er besaß ein stark ausgeprägtes flaches, sandiges Luftmycel mit gelblich-cremefarbenem Aussehen, reichlich Mikrokonidien mit oval bis länglicher Form - gestielt und in Clusters -, sowie mehrere Makrokonidien mit länglichem, stark segmentiertem Aussehen.

Diese Pigmentierung des Nährbodens wurde auch bei einigen in den Differenzierungstests benutzten Nährmedien festgestellt. Bei den Tests selbst zeigte dieser Stamm jeweils ein für Trich.ment. typisches Verhalten.

TABELLE V

Kriterien der morphologischen Beurteilung von Trich.rubrum und Trich.ment.

	Trich.rubrum Anz.d.Stämme	Trich.ment. Anz.d.Stämme
Anzahl der Stämme (gesamt)	73	26
Kolonieform:		
- halbkugelig, flaumig	37	-
- flachflaumig m. zentr.Knopf	36	-
- flachflaumig, samtig	-	5
- sandig-gipsig	-	21
Farbe der Oberfläche:		
- weiß	46	2
- gelblich-weißlich	6	8
- weiß m. zartrosa Randzone	15	-
- rötlich/rosa	3	2
- cremefarben	1	10
- hellbraun-graubraun	2	-
- gelbl.Zentr. m.weiß. Rand	-	4
Makrokonidien:	38	14
Spiralhyphen:	-	13
Pigmentbildende Stämme:	3	1
Mikrokonidien:		
- keine	9	-
- wenige	39	-
- nur sektorenw. reichlich	25	8
- reichlich	-	18
Form der Mikrokonidien:	überwiegend länglich, oval, tropfenförmig	überwiegend rund, manchmal oval

4.1.3 "Atypische" Stämme

In diese Gruppe gehörten all jene Stämme, die innerhalb der makro- und mikroskopischen Beurteilung so deutlich auseinandergingen, daß eine eindeutige Einteilung nicht bzw. nur mit erheblichen Zweifeln vorgenommen werden konnte. Dieses Bild zeigten 4 der 103 untersuchten Stämme.

2 Stämme wiesen flachflaumiges, eher samtiges Mycel mit cremefarbener Oberfläche auf. Unter dem Mikroskop sah man wenige, meist oval bis längliche Mikrokonidien und mehrere Makrokonidien mit unterschiedlicher Form.

Die in ihrem makroskopischen Aussehen eher einem Trich.ment. und in ihrem mikroskopischen Bild eher einem Trich.rubrum entsprechenden Stämme wurden auf Grund der mikromorphologisch eindeutigeren Aussage zu den Trich.rubrum-Stämmen eingeordnet. Im folgenden werden sie als ATR 1 und 2 bezeichnet.

Die beiden anderen Stämme wurden dagegen auf Grund ihres eigenartigen makromorphologischen Bildes zu den atypischen Vertretern des Trich.ment. gezählt, obwohl auch hier das mikroskopische Bild eine andere Einord-

nung zugelassen hätte.

Dieses unterschiedliche Verhalten innerhalb der morphologischen Merkmale dürfte denn auch als d i e große Schwierigkeit bei der Beurteilung und der damit erfolgenden Einordnung in diese oder jene Spezies nur auf Grund der Makro- und Mikromorphologie angesehen werden.

Der Vollständigkeit wegen sollen die beiden unklaren Trich.ment.-Stämme - im folgenden mit ATM 1 und ATM 2 bezeichnet - noch im einzelnen beschrieben werden:

ATM 1: flachflaumiges, zentral vertieftes (unter Nährbodenebene), radiäres Luftmycel mit strahlenförmigen wallartigen Erhebungen; weißlich-gelbliche Oberfläche; wenige, meist längliche Mikrokonidien; keine Makrokonidien sichtbar.

ATM 2: flaches, sandiges Mycel mit zentral erhabenem Knopf; weißlich-gelbliche Oberfläche; überwiegend längliche, sektorenweise reichlich vorkommende Mikrokonidien und haufenweise längliche, dünne und stark segmentierte Makrokonidien.

Diese 4 Stämme, die auf Grund ihrer makro- und mikromorphologischen Unterschiede in die Rubrik der atypischen Stämme eingeordnet wurden, bleiben bei der nun folgenden Besprechung der einzelnen Differenzierungstests unberücksichtigt und werden erst im Anschluß daran gemeinsam auf ihr Verhalten während der Testreihen untersucht.

4.2 10 % - Peptonwassertest nach GÖTZ

4.2.1 Trich.rubrum

In 10 %iger-Peptonlösung wuchsen von den 73 untersuchten Trich.rubrum-Stämmen nach 10 Tagen nur 51 ausschließlich auf dem Boden, 17 Stämme auf der Oberfläche, 4 sowohl auf der Oberfläche als auch submers und 1 Stamm in der Schwebe zwischen Boden und Oberfläche der Nährlösung (Tab. VI).

19 der insgesamt 21 auf der Oberfläche wachsenden Stämme hatten eine sehr charakteristische Wachstumsform:weiße, flaumige, halbkugelige Kolonien, die nach ca. 20 Tagen Doppelringe mit weißlich-gelblich-hellbrauner Farbe bildeten. Somit zeigten nur 2 Stämme ein atypisches Verhalten auf der Oberfläche, das dem von Trich.ment. entsprach.

Berücksichtigt man neben der Alternative Boden-Oberfläche auch noch die Wachstumsform der Pilze auf der Oberfläche, so bestätigten 70 der 73 Stämme (95,9 %) die nach morphologischen Gesichtspunkten erfolgte Einteilung.

Die Wiederholungsversuche brachten geringfügig schlechtere Ergebnisse:
67 Stämme zeigten charakteristisches Verhalten (91,8 %). Entsprechend der Einteilung nach Tab. VI ergab sich in 46 Fällen (63 %), bzw, bei Berücksichtigung der Wachstumsform in 68 Fällen (93 %) Übereinstimmung zwischen dem ersten und zweiten Testverhalten.

4.2.2 Trich.ment.

Von den 26 Trich.ment. zugeordneten Stämmen zeigten 18 Stämme eindeutiges Oberflächenwachstum, 6 wuchsen auf dem Boden, je 1 Stamm wuchs in der Schwebe und sowohl auf der Oberfläche als auch submers.

Sämtliche auf der Oberfläche wachsenden Kolonien (19 Stämme = 73 %) zeigten das für Trich.ment. typische Wachstumsbild:
weißliche bis hellbraune, gefältete Oberfläche mit Einsenkungen und Vertiefungen, häufig höckerig erscheinendes Mycel. Das Wachstum auf dem Boden der Nährlösung schwankte zwischen gut bis kümmerlich.

Die Wiederholungsversuche boten überraschend ein deutlich besseres Ergebnis:

19 Stämme wuchsen nur auf der Oberfläche, 4 auf dem Boden und der Oberfläche, 2 auf dem Boden und 1 Stamm in der Schwebe der Nährlösung. 22 Stämme (84,6 %) zeigten typisches Oberflächenwachstum, 1 Stamm verhielt sich in der Wachstumsform wie ein Trich. rubrum.

Übereinstimmung zwischen beiden Versuchsreihen ergab sich nach Einteilung lt. Tab. VI in 16 Fällen (61,5 %), bzw. in 20 Fällen (77 %).

4.2.3 Allgemeine Ergebnisse

Im Verlauf der Versuchsdurchführung stellte sich bald heraus, daß die von GÖTZ vorgeschlagenen Kriterien - Wachstum entweder auf der Oberfläche oder auf dem Boden der Nährlösung - nicht repräsentativ genug sind, insbesondere wenn man das häufige oberflächliche Wachstum von Trich.rubrum betrachtet.

Diese Beobachtung und die daraus resultierenden Überlegungen veranlaßten REFAI, RIETH und ITO (81), der Oberflächen-Wachstumsform eine besondere Bedeutung beizumessen. Bei der Auswertung mit Hilfe ihrer als typisch angegebenen Kriterien ergab sich eine durchweg

bessere Bestätigung der auf 10 %iger Peptonlösung gefundenen Ergebnisse als bei Anwendung der GÖTZ'schen Beurteilungen.

Das bei einigen Trich.rubrum-Stämmen beobachtete Absinken auf den Röhrchenboden nach wenigen Tagen blieb im Ergebnis unberücksichtigt. Nur das Bild, das sich nach 10 Tagen zeigte, wurde festgehalten und für den entsprechenden Stamm als typisches Merkmal gewertet.

Die Beurteilung der Wachstumsform erfolgte ausschließlich nach 20 Tagen und brachte bezüglich des Wachstums in der Nährlösung nach 10 Tagen keine Veränderungen innerhalb der erfolgten Einteilung nach Tab. VI.

TABELLE VI

Wachstum von Trich.rubrum und Trich.ment. in 10 %iger Peptonlösung

	Test	B	O	B + O	S	O+	B u. O+	Anz.d.Stämme
a) Trich.	I	51	17	4	1	19	70	73
rubrum	II	40	22	7	4	27	67	73

	Test	B	O	B + O	S	O+	O-	Anz.d.Stämme
b) Trich.	I	6	18	1	1	19	-	26
ment.	II	2 x	19	4	1	22	1 x	26

B : Bodenwachstum
O : Oberflächenwachstum
B + O : Boden- und Oberflächenwachstum
S : Wachstum in der Schwebe zwischen B + O
O+ : typisches Oberflächenwachstum bei O und B + O
B u. O+ : Trich.rubrum-Stämme mit typischem Wachstum
O- : atypisches Oberflächenwachstum bei Trich.ment.-Stämmen
Test II : Versuchswiederholung nach 8 Wochen
x : diese Stämme zeigten in den anderen Differenzierungstests ebenfalls atypisches Verhalten

4.3 4 % - Glucose - 1 % - Pepton-Wassertest

4.3.1 Trich.rubrum

Bei der von ZIPRKOWSKI und Mitarbeiten (119) vorgeschlagenen Modifizierung der GÖTZ'schen Nährlösung, nämlich 4 % - Glucose - 1 % Pepton-Wasserlösung, ergaben sich für Trich. rubrum nach einer Ablesezeit von 3 Tagen zunächst überraschende Ergebnisse:

Nur 11 der 73 Stämme wuchsen auf dem Boden, 50 auf der Oberfläche und 12 sowohl auf der Oberfläche als auch submers. Die ausschließlich auf dem Boden wachsenden Stämme zeigten meist nach 10 bis 20 Tagen viele kleine gelb-grünlich bis hellbraune, sternförmige Kolonien, die sich später zu einem mehr oder weniger gut wachsenden Mycel entwickelten.

Von den auf der Oberfläche wachsenden Stämmen bildeten 56 typische Kolonien:
weiße, halbkugelige, manchmal auch glatte Oberflächen und eine stets glatte, meist grünlich-weißliche oder grünlich-braune Unterseite; im Laufe des Wachstums zeigte sich eine mehrschichtige (meist 2 bis 3) Struktur mit oben weißlich und unten grünlich-

brauner Farbe. Somit zeigten insgesamt 67 Stämme (91,8 %) Trich.rubrum-Verhalten, der Wiederholungsversuch fiel fast gleich aus (s. Tab. VII).

4.3.2 Trich.ment.

Sämtliche 26 zu Trich.ment. eingeordneten Stämme zeigten oberflächliches Wachstum, 4 Stämme davon wuchsen auch submers. Insgesamt 4 Stämme bildeten nicht die für Trich.ment. typische Wachstumsform: entweder entstand eine meist weißliche, glatte, manchmal auch watteartige Mulde oder auch eine stark gefaltete Oberfläche mit Vertiefungen und Einsenkungen. Beide Formen zeigten eine sehr unregelmäßige, höckerige oft grünlich-braune Unterseite. 22 Stämme (84,6 %) zeigten diese Oberflächenstruktur.

4.3.3 Allgemeine Ergebnisse

Bei den Trich.rubrum-Stämmen ergab sich zwischen dem ersten und zweiten Versuch eine Übereinstimmung in 32 Fällen (43,8 %) bei der Beurteilung nach GÖTZ. Bei der Beurteilung nach REFAI, RIETH und ITO ergab

sich jedoch eine Übereinstimmung in 72 Fällen (98,6 %). Die analogen Ergebnisse bei den Trich.ment.-Stämmen brachten eine Übereinstimmung in 23 (88,5 %) bzw. 25 Fällen (96,2 %).

Ferner ist zu bemerken, daß sich bei den Ablesungen nach 3 Tagen und 20 Tagen kein Stamm in der Schwebe zwischen Boden und Oberfläche der Nährlösung befand.

Bei dieser Nährlösung war sehr deutlich auch die Farbstoffbildung der beiden Trich. rubrum-Stämme mit melanoidem Pigment zu sehen, ebenso wie die mittelbraune Färbung durch den vorher schon erwähnten Trich.ment.-Stamm.

Auffällig in dieser Lösung war ferner das Verhalten von 8 Trich.rubrum-Stämmen nach 20 bis 30 Tagen:
von dem auf der Oberfläche gewachsenen Mycel erfolgte ein anfangs tropfenförmiges, später girlandenförmiges Wachstum am Rande des Reagensglases entlang in die Tiefe der Nährlösung. Diese 8 Stämme zeigten in den anderen Differenzierungstests typische Trich.rubrum-Reaktionen.

Für dieses bisher noch nicht beschriebene Phänomen gibt es noch keine sichere Erklärung. Es bedarf der eindeutigen Überprüfung, inwieweit sich das Mycel der Oberfläche von dem in der Nährlösung wachsenden unterscheidet, welche pH-Änderung die Lösung bei Wachstum in die Tiefe erfährt., usw. Interessant dürfte die Beobachtung sein, daß jeder in die Tiefe wachsende Mycelstrang an seiner Spitze eine Luftblase mit sich führte.

TABELLE VII

Wachstum von Trich.rubrum und Trich.ment.
in 4 % - Glucose - 1 % - Peptonlösung

	Test	B	O	B + O	S	O+	B u. O+	Anz.d.Stämme
a) Trich.	I	11	50	12	-	56	67	73
rubrum	II	9	35	29	-	57	66	73

	Test	B	O	B + O	S	O+	O-	Anz.d.Stämme
b) Trich.	I	-	22	4	-	22	4 x	26
ment.	II	-	21	5	-	23	3 x	26

x : 3 Stämme zeigten in den anderen Differenzierungstests ebenfalls atypische Reaktionen

Erklärungen siehe Tab. VI

4.4 Urease-Test nach PHILPOT

4.4.1 Trich.rubrum

Von den 73 Stämmen zeigten 72 typisches Trich.rubrum-Verhalten. Nur 1 Stamm zeigte nach 6 Tagen um die beimpfte Stelle eine leichte Rotfärbung. Die Kolonie hatte eine sandig-gipsige Oberflächenstruktur. Demgegenüber zeigten die übrigen als Trich.rubrum eingestuften Stämme ein leicht flaumiges oberflächliches Aussehen.

4.4.2 Trich.ment.

23 Stämme verursachten eine deutliche Rotfärbung des Nährbodens, 3 Stämme zeigten keine Reaktion. Die unterschiedliche Intensität der Stämme ist der Tab. VIII zu entnehmen.

4.4.3 Allgemeine Ergebnisse

Die Ergebnisse dieses Versuches sind sehr vom Ablesetermin abhängig; das beste und am deutlichsten trennende Kriterium erzielte man nach 6 Tagen. Einige der Trich.rubrum-

Stämme zeigten z.T. schon nach 8 - 10 Tagen erste Anzeichen einer Rotfärbung des Nährbodens. Nach 14 Tagen war fast die Hälfte der mit Trich.rubrum-Stämmen beimpften Nährplatten rot gefärbt, wenngleich jedoch das Rot nie die von Trich.ment.-Stämmen verursachte Intensität erreichte.

Besonders erwähnenswert ist in diesem Zusammenhang die Tatsache, daß die Wiederholungsversuche nach 8 Wochen mit den Erstergebnissen identisch waren. 4 der Trich.ment.-Stämme zeigten beim zweiten Test eine deutlich intensivere Rotfärbung des Nährmediums.

TABELLE VIII

Ureaseaktivität von Trich.rubrum- und Trich.ment.-Stämmen (abgelesen nach 6 Tagen)

	Trich.rubrum	Trich.ment.
-	72 (72)	3 (3) x
+	1 (1)	-
++	-	4 (-)
+++	-	19 (23)

\- : keine Veränderung des gelben Nährbodens
\+ : leichte Rotfärbung um beimpfte Stelle
++ : gute Rotfärbung des Nährbodens
+++ : sehr intensive Rotfärbung der ganzen Platte
Zahlen in Klammern: Ergebnisse der Wiederholungsversuche nach 8 Wochen
x : bei anderen Differenzierungstests ebenfalls atypische Reaktionen

TABELLE IX

Lipase-Aktivität der Trich.rubrum- und Trich.ment.-Stämme (abgelesen nach 14 Tagen)

	Trich.rubrum	Trich.ment.
+	-	23
-	73	3

\+ : positive Enzymaktivität
\- : negative Enzymaktivität

4.5 Lipase-Test nach BÖHME

4.5.1 Trich.rubrum

Sämtliche 73 Trich.rubrum-Stämme zeigten die für sie typische negative Lipase-Reaktion. Trotz dieses einheitlichen Ergebnisses gab es kleine Unterschiede im Wachstum, wie sie auch von BÖHME gefunden wurden. Bei 67 Stämmen sah man leicht flaumige, von der beimpften Stelle aus strahlenförmige Mycelbildung ohne Blaufärbung der Fetttropfen oder des Nährmediums.

Eine Aufhellung des Nährbodens rings um die Kolonie ließ die Lipidtröpfchen klarer erkennen - eine Folge der pH-Änderung des Nährmediums durch das Pilzwachstum.
3 Stämme bildeten einen dunkelblauen, ca. 1 - 2 mm breiten, kreisförmigen Hof um die Impfstelle; bei 3 weiteren Stämmen war kein Wachstum zu beobachten, der Impfpartikel jedoch färbte sich blau. (Supravitalfärbungseffekt?)

4.5.2 Trich.ment.

23 Stämme zeigten die für Trich.ment. charakteristische Reaktion: kräftige Blaufärbung des Nährbodens unter der Impfstelle und eines stammbedingt unterschiedlich breiten Saumes. Die Pilzoberfläche war ebenfalls von einem typisch sandig-gipsigen bis granulösen Aussehen. Wie schon in den vorher beschriebenen Versuchen verhielten sich auch in diesem Test die 3 gleichen Stämme atypisch in ihrer Reaktion. Je 1 Stamm zeigte die bei Trich.rubrum gefundenen Reaktionen.

4.5.3 Allgemeine Ergebnisse

Die von einigen Autoren (72) vorgeschlagene Ablesezeit von 6 Tagen erwies sich in diesem Test als unzureichend. Trotz einiger Versuche mit Platten von unterschiedlichen pH-Werten konnte erst nach 10 - 14 Tagen eine eindeutige Aussage über die Enzym-Aktivität und damit über die typischen Reaktionen gemacht werden. Die Ergebnisse nach 14 Tagen waren für die Auswertung verbindlich. Beim Wiederholungsversuch sah man dieselben Reaktionen wie bei der ersten Testreihe.

4.6 Wachstumshemmung auf 5 % - Propandiol - 1,2 - Kimmig - Agar

Im Rahmen einer Arbeit mit dem Ziel, Pilzkolonien länger haltbar zu machen, stieß REMMECKE (85) auf Propandiol - 1,2, das als 5 %iger Zusatz zu Kimmig-Agar eine Differenzierung von Trich.rubrum und Trich.ment. zuließ. Es galt daher, seine Ergebnisse anhand eines größeren Untersuchungsmaterials zu überprüfen.

4.6.1 Trich.rubrum

Das Wachstum von 72 Trich.rubrum-Stämmen war deutlich gehemmt, nur 1 Stamm zeigte ungehemmtes Wachstum. Allerdings war die Farbe der Oberfläche nicht einheitlich: 42 Stämme besaßen eine hellviolette und 22 eine weißlich-gelbliche Oberfläche; 6 Stämme wiesen eine rötlich-braune und 2 Stämme eine hellbraune Oberflächenfarbe auf. Bei den 2 melaninbildenden Trich.rubrum-Stämmen war trotz der Wachstumshemmung eine deutliche Pigmentierung des Nährbodens festzustellen. Der einzige nicht gehemmt wachsende Stamm besaß ein cremefarbenes Luftmycel und eine mindestens dreimal so große Kultur wie die der

übrigen.

4.6.2 Trich.ment.

20 der 26 Trich.ment.-Stämme zeigten kaum gehemmtes Wachstum mit cremefarbener Oberfläche (bei 14 Stämmen), mit hellbraun-mittelbrauner Oberfläche (bei 3 Stämmen), mit gelblicher Oberfläche (bei 2 Stämmen) und mit rötlich-brauner Oberfläche (bei 1 Stamm). 6 Stämme zeigten ein deutlich gehemmtes Wachstum mit unterschiedlicher Oberflächenfarbe (von weißlich bis rötlich-braun). Davon zeigten 3 Stämme die bei Trich.rubrum vorgekommene Wachstumsform, bei den anderen 3 Stämmen war trotz des gehemmten Wachstums ein stark erhöhtes Luftmycel von harter Konsistenz zu beobachten, das sich aber nur in die Höhe und nicht in die Breite erstreckte.

TABELLE X

Wachstumshemmung auf 5 % Propandiol-Kimmig-Agar unter Berücksichtigung der Farbstoffbildung auf der Oberfläche

	Trich.rubrum	Trich.ment.
Wachstum:		
gehemmt	72	6
nicht gehemmt	1	20
Farbe der Oberfläche:		
blaßviolett	42	1
weiß	22	1
rötlich-braun	6	2
hellbraun-mittelbraun	2	4
cremefarben	1	15
gelblich	-	2
mokkafarben	-	1
Anzahl der Stämme	73	26

4.7 Kartoffel - Glucose - Agar

Der von EDGECOMBE (27) und RIVALIER-SEYDEL (19) vorgeschlagene Kartoffel-Glucose-Agar zur Pigmentstimulation ist in diesem Versuch durch einen Fertig-Nährboden der Firma MERCK (73) ersetzt worden. Dieser Nährboden wird im übrigen auch zu einer anderen Verwendung angeboten. Vorversuche hatten ergeben, daß die Pigmentstimulation auf dem genannten Fertignährboden einwandfrei zu erzielen war. Bisher wurde eine solche Untersuchung noch nicht mit einem Fertignährboden vorgenommen.
Bei diesem Test soll daher nicht nur die Pigmentstimulation, sondern auch die Brauchbarkeit dieses Nährmediums untersucht werden.

4.7.1 Trich.rubrum

Nach 3 bis 4 Wochen Bebrütung zeigten 68 Stämme weinrotes bis intensiv-rotbraunes Pigment auf der Unterseite, das meist auch in den Nährboden diffundierte. Diese Stämme bildeten alle ringförmiges oder kokardenartiges Wachstum mit klaren Grenzen zum benachbarten Ring oder mit diffusem Übergang. 1 Stamm wuchs ohne Pigmentbildung, aber ebenfalls mit ringförmig angeordnetem Mycel.

4 Stämme zeigten auch dieses Wachstum, aber mit einigen Besonderheiten:
2 Stämme besaßen bräunlich-gelbes Pigment;
1 Stamm hatte nur im Zentrum weinrotes Pigment, die breite Randzone aber war weiß;
1 Stamm zeigte bei sandiger Oberfläche ein cremefarbenes Zentrum mit roter Randzone.

4.7.2 Trich.ment.

15 Stämme zeigten ein bräunlich-gelblich-cremefarbenes Pigment bei strahlenartigem, verästeltem Wachstum und sandig-gipsiger Oberfläche. Dasselbe Wachstum und die gleiche Oberflächenstruktur waren bei 5 Stämmen mit intensiv-rotbraunem Pigment und bei 2 Stämmen ohne Pigmentierung zu beobachten.

1 Stamm zeigte ringförmiges, klar abgegrenztes Wachstum mit sandig-gipsiger, weißer Oberflächenstruktur; die Rückseite wies ein großes, dunkelbraunes Zentrum auf mit anschließend breitem rotem Ring und danach typischem strahlenartigem, verästeltem Wachstum. Diese eigenartige Struktur war auch nach mehreren Überimpfungen zu finden, so daß hier durchaus von einem für diesen

Stamm ganz typischen Verhalten gesprochen werden kann.

3 Stämme - dieselben, die in den übrigen Tests atypisch reagierten - waren mit typischem Trich.rubrum-Wachstum aufgefallen: intensiv rotbraunes Pigment und ringförmig angeordnetes bzw. kokardenartiges Mycel.

4.7.2 Allgemeine Ergebnisse

Abschließend kann zu diesem Nährboden gesagt werden, daß das ursprüngliche Kriterium, die Pigmentstimulation, nicht nur für Trich. rubrum-Stämme Gültigkeit hat. Sieht man einmal von der Wachstumsform ab, so fanden sich bei allen 103 untersuchten Stämmen nur 4 Stämme (ATM 1 war ebenfalls ohne Pigment), die keine Pigmentbildung zeigten. Somit erschien die Pigmentstimulation als alleiniges Kriterium bei Benützung dieses Nährbodens unzureichend.

Dagegen erwies sich als weitere sehr nützliche Beurteilung die unterschiedliche Wachstumsform (ringförmig-strahlenartig), die letzten Endes in Übereinstimmung mit der Pigmentbildung bei der Bewertung der Ergebnisse

ausschlaggebend war. Die entsprechende Einteilung ist der Tabelle XI zu entnehmen. Die Wiederholungsversuche ergaben dieselben Ergebnisse.

TABELLE XI

Pigmentstimulation auf Kartoffel-Glucose-Agar unter Berücksichtigung der Wachstumsformen

Pigment		Trich.rubrum	Trich.ment.
rotbraun-weinrot	R	68	3
	S	-	5
bräunlich-gelblich-cremefarben	R	2	-
	S	-	15
ohne Pigment	R	1	-
	S	-	2
besondere Pigmentbildung	RS	2	1
Anzahl der Stämme		73	26

R : ringförmig bzw. kokardenartig
S : strahlenförmig, verästelt
RS : Wachstumsformen mit unklarer Einordnung

4.8 Haarperforationstest nach AJELLO und GEORG

4.8.1 Trich.rubrum

Von den 73 Trich.rubrum-Stämmen drangen 57 nicht in das angebotene Haarmaterial ein. 16 Stämme perforierten die Haare in unterschiedlicher Intensität (s.Tab. XII).

4.8.2 Trich.ment.

23 Stämme wiesen Perforationen auf, die aber keinen einheitlichen Befall der Haare zeigten (Tab. XII). Keine Perforationszapfen bildeten 3 Stämme; unter ihnen befand sich einer mit sonst typischen Trich.ment.-Reaktionen.

4.8.3 Allgemeine Ergebnisse

Um die Aussagekraft des Tests zu überprüfen, wurde mit 83 Stämmen ein zweiter Versuch durchgeführt. Dabei wurde anderes Haarmaterial verwendet, das ebenfalls noch keiner chemischen Behandlung ausgesetzt war.

Bei den Trich.rubrum-Stämmen ergab sich nur in 67 % der Fälle (bei 39 von 58 Stämmen) eine Übereinstimmung mit dem ersten Versuch, bei Trich.ment. waren es immerhin 88 % (22 von 25 Stämmen).

Die von Trich.rubrum-Stämmen gebildeten Haarperforationszapfen wurden in den meisten Fällen erst nach 3 bis 4 Wochen beobachtet. Die überwiegende Anzahl der Trich.ment.-Stämme dagegen wies schon nach 7 Tagen deutliche Perforationen im Haarmaterial auf. Nach 3 bis 4 Wochen waren im Vergleich zu den Trich.rubrum-Stämmen die von Trich.ment. befallenen Haare stärker angegriffen und an sehr vielen Stellen ganz durchgetrennt, nur selten konnten noch einige Perforationszapfen beobachtet werden. Die Intensität an Perforationsstellen war zwar unterschiedlich groß, jedoch kamen bei einigen Stämmen Haare mit nur vereinzelt und gleichzeitig stark perforierten Stellen vor.

Ebenso waren die Perforationsformen der Trich.rubrum- und Trich.ment.-Stämme nicht für jeden Stamm typisch genug; meistens waren sie von keilförmigem, Bleistiftspitzen ähnlichem Aussehen. Für eine systematische

Auswertung dieser Ergebnisse erschienen die Unterschiede in Form und Intensität der gebildeten Perforationszapfen nicht ausreichend genug. Auf eine tabellarische Erfassung der typischen Perforationsorgane wurde deshalb verzichtet.

TABELLE XII

Haarperforationstest nach AJELLO und GEORG

	Trich.rubrum	Trich.ment.
-	57	3
+	3	1
++	12	6
+++	1	16
Anzahl der Stämme	73	26

\- : keine Haare mit Perforationszapfen
\+ : sehr wenige Haare mit Perforationszapfen
++ : mehrere Haare mit Perforationszapfen
+++ : sehr viele Haare mit Perforationszapfen

4.9 Verhalten der "atypischen" (nicht eindeutig einzuordnenden) Stämme

Im folgenden sollen die auf Seite 54 schon erwähnten 4 Stämme besprochen werden, die keine eindeutige Einstufung nach morphologischen Gesichtspunkten erlaubten. Ihr Verhalten in den einzelnen Differenzierungstests ist der Tab. XIII zu entnehmen.

Die beiden zu Trich.rubrum eingestuften Stämme ATR 1 und 2 bestätigten die Einordnung zu dieser Gattung. Lediglich der Stamm ATR 1 verhielt sich einmal atypisch, und zwar im Haartest. Alle anderen Reaktionen waren charakteristisch für Trich.rubrum.

Anders dagegen sieht es bei den Stämmen ATM 1 und 2 aus, die zu Trich.ment. eingestuft wurden. ATM 1 zeigte zwar im Peptonwassertest eine atypische Reaktion und auf dem Kartoffel-Glucose-Agar kein Pigment, jedoch kokardenartiges Wachstum; ATM 2 aber zeigte mit Ausnahme des Haartests durchweg die für Trich.rubrum typischen Reaktionen.

Sowohl ATR 1 als auch ATM 2 zeigten beim Haartest im Wiederholungsversuch ein anderes Ergebnis, nämlich keine Perforationszapfen mehr.

TABELLE XIII

Reaktionsverhalten von 4 morphologisch nicht eindeutig einzuordnenden Stämmen in 7 verschiedenen Differenzierungstests

Diff.Tests	ATR 1	ATR 2	ATM 1	ATM 2
Peptonwassertest	Bodenwachstum	Bodenwachstum	Bodenwachstum	Bodenwachstum
Glucose-Peptonwassertest	Wachstum auf Boden und Oberfläche mit typ.Form	Bodenwachstum	Wachstum auf Boden und Oberfläche mit typ.Form	Wachstum auf Oberfläche mit atyp. Form
Kartoffel-Glucose-Agar	weinrotes Pigment mit ringf. Wachstum	intensiv rotbraunes Pigment mit ringf. Wachstum	ohne Pigment, kokardenart. Wachstum	weinrotes Pigment mit ringförmigem Wachstum
Ureasetest	keine Aktivität	keine Aktivität	gute Rotfärbung	keine Aktivität
Lipase-Agar	keine Aktivität	keine Aktivität	gute Aktivität	keine Aktivität
Haartest	Perforationszapfen bei wenigen Haaren	keine Perforationen	Perforationszapfen bei mehreren Haaren	Perforationszapfen bei mehreren Haaren
Propandiol	gehemmtes Wachstum	gehemmtes Wachstum	nicht gehemmtes Wachstum	gehemmtes Wachstum
Atypische Reaktionen	1 x: Haartest	keine	2 x: Peptonwassertest, Kartoffel-Glucose-Agar	6 x: Pepton, Glucose-Pepton, Kartoffel-Glucose, Urease, Lipase, Propandiol

4.10 Vergleich der Einzelergebnisse

Bei der Zusammenstellung und Bewertung der Einzelergebnisse werden von den Differenzierungsversuchen mit 10 % - Peptonlösung, 4 % Glucose-1 % Peptonlösung, Haarperforationstest und 5 % - Propandiol-Kimmig-Agar nur die Ergebnisse der Erstversuche genommen: GÖTZ empfiehlt für die Peptonlösung nur frisch isolierte Stämme - alte Subkulturen zeigen Neigung zu submersem Wachstum -, der Haarperforationstest wurde nur einmal vollständig mit dem gleichen Haarmaterial untersucht und der Propandiolversuch war als zuletzt durchgeführter Test nur einmal mit gleichgutem Material aus den Subkulturen durchzuführen. Die übrigen Differenzierungstests (Lipase-, Urease- und Kartoffel-Glucose-Agar) zeigten auch in den Wiederholungsversuchen die gleichen Resultate.

Die Vergleiche der 7 Differenzierungstests mit der morphologischen Beurteilung ergeben folgendes Bild:

1) Trich.rubrum-Stämme

Von den 73 Trich.rubrum zugeordneten Stämmen zeigten 47 Stämme (64,4 %) Übereinstimmung

in allen Tests. 21 Stämme (28,8 %) verhielten sich einmal, 4 Stämme zweimal und 1 Stamm dreimal atypisch für Trich.rubrum in ihren Reaktionen (Tab. XIV und Tab. XVI).

Auffällig bei der Betrachtung der Tab. XIV und XVI ist die gehäufte atypische Reaktion der Trich.rubrum-Stämme im Haarperforationstest. Bemerkenswert ist ferner, daß 5 Stämme bei atypischer Reaktion auf Kartoffel-Glucose-Agar immer gleichzeitig auch einen negativen Haartest aufwiesen. Die Hälfte der im Haartest atypisch reagierenden Trich.rubrum-Stämme zeigte im Wiederholungsversuch mit anderem Haarmaterial ein gegenteiliges, also positives Ergebnis.

2) Trich.ment.-Stämme

16 der morphologisch zu Trich.ment. eingestuften Stämme (61,5 %) stimmten in allen Differenzierungstests überein. 4 Stämme zeigten einmal und 3 Stämme zweimal atypische Reaktionen für Trich.ment. Insgesamt 3 Stämme wiesen 6- bzw. 7 mal (siehe Tab. XV und XVII) atypisches Trich.ment.-Verhalten trotz morphologisch eindeutiger Kriterien auf.

TABELLE XIV

Verhalten von 73 morphologisch typischen Trich.rubrum-Stämmen bei Untersuchung in 7 verschiedenen Differenzierungstests

alle Reaktionen charakteristisch für T.r.	47 Stämme
1 Reaktion atypisch für T.r.	21 Stämme
2 Reaktionen atypisch für T.r.	4 Stämme
3 Reaktionen atypisch für T.r.	1 Stamm

TABELLE XV

Verhalten von 26 morphologisch typischen Trich.ment.-Stämmen bei Untersuchung in 7 verschiedenen Differenzierungstests

alle Reaktionen charakteristisch für T.m.	16 Stämme
1 Reaktion atypisch für T.m.	4 Stämme
2 Reaktionen atypisch für T.m.	3 Stämme
6 Reaktionen atypisch für T.m.	1 Stamm
alle 7 Reaktionen atypisch für T.m.	2 Stämme

TABELLE XVI

Untersuchung von Trich.rubrum:
Häufigkeit der für Trich.rubrum atypisch ausgefallenen Reaktionen

A:	1 Reaktion atypisch für Trich.rubrum	
	Haartest	11 Stämme
	Glucose-Pepton-Wassertest	5 Stämme
	Pepton-Wassertest	3 Stämme
	Urease-Test	1 Stamm
	Propandiol-Kimmig-Agar	1 Stamm
B:	2 Reaktionen atypisch für Trich.rubrum	
	Kartoffel-Glucose-Agar + Haartest	4 Stämme
C:	3 Reaktionen atypisch für Trich.rubrum	
	Glucose-Pepton-Wassertest + Haartest + Kartoffel-Glucose-Agar	1 Stamm

TABELLE XVII

Untersuchung von Trich.ment.:
Häufigkeit der für Trich.ment. atypisch ausgefallenen Reaktionen

A:	1 Reaktion atypisch für Trich.ment.	
	Peptonwassertest	2 Stämme
	Propandiol-Kimmig-Agar	1 Stamm
	Kartoffel-Glucose-Agar	1 Stamm
B:	2 Reaktionen atypisch für Trich.ment.	
	Propandiol + Peptonwassertest	2 Stämme
	Haartest + Glucose-Peptonwassertest	1 Stamm
C:	6 Reaktionen atypisch für Trich.ment.	
	Pepton + Glucose-Pepton + Urease + Kartoffel-Glucose + Lipase + Propandiol	1 Stamm
D:	Alle Reaktionen atypisch für Trich.ment.	
	alle Ergebnisse wie bei Trich.rubrum	2 Stämme

Faßt man alle Ergebnisse zusammen, dann ergibt sich nach Abschluß der Untersuchungen folgender Stand:
Von den 103 zu untersuchenden Stämmen waren 99 nach morphologischen Kriterien eindeutig einzuordnen. Bei 4 Stämmen bestanden gewisse Zweifel an einer klaren Einstufung, so daß sie nur auf Grund des überzeugenderen Bildes bei der morphologischen Beurteilung in diese oder jene Gattung eingereiht wurden. Sämtliche 75 zu Trich.rubrum eingeordneten Stämme bestätigten überwiegend in den Differenzierungstests ihre Zugehörigkeit zu dieser Gattung. Der Haarperforationstest zeigte dabei mit 17 atypischen Reaktionen das schlechteste Ergebnis. Dies wird umso deutlicher, wenn man das Ergebnis des Wiederholungsversuches mit anderem Haarmaterial zum Vergleich heranzieht, das nur mit der Hälfte der zuerst atypisch reagierenden Stämme das gleiche Verhalten erlaubte.

Nicht ganz so günstig lagen die Ergebnisse bei den Trich.ment.-Stämmen:
4 Stämme - 3 morphologisch typische und ein "atypischer" - zeigten 6 bzw. 7 atypische Reaktionen für Trich.ment. (je zweimal). Die

3 typischen Stämme wiesen unter dem Mikroskop reichlich Mikrokonidien mit meist länglichem, birnenförmigem Aussehen und reichlich Makrokonidien mit länglicher, stark segmentierter Form auf. Bei 1 Stamm waren Spiralhyphen zu beobachten. Der "atypische" Stamm zeigte im mikromorphologischen Bild ebenfalls reichlich Mikrokonidien mit länglicher Form und haufenweise Makrokonidien mit dünner, länglicher Form und vielen Segmenten.

Somit drängt sich die Frage auf, ob ein Stamm mit einem mikromorphologischen Befund, wie oben beschrieben, nicht generell zu Trich. rubrum gezählt werden soll. Einige Autoren (78, 14, 19) sehen in den gefundenen Kriterien die für Trich.rubrum typische Formen der Mikro- und Makrokonidien.

Bei allen 4 Stämmen zeigte das makroskopische Bild eine sandig-gipsige Oberfläche. Auf Grund der überwiegend für Trich.rubrum typischen Reaktionen und des im mikroskopischen Bild sporenreichen Befundes muß es sich um Trich.rubrum mit gipsiger Wuchsform handeln. Diese Variante wurde u.a. auch schon von SCHÖNBORN (96) beschrieben.

Somit sind diese 4 Stämme anhand der Differenzierungstests als falsch diagnostiziert anzusehen. Sie müssen zu Vertretern der Gattung Trich.rubrum gezählt werden. Die Tabelle XVIII gibt ein abschließendes Bild aller morphologischen Kriterien der 103 zu untersuchenden Trich.rubrum- und Trich.ment.-Stämme nach endgültiger Einordnung mit Hilfe der Differenzierungstests wieder.

TABELLE XVIII

Morphologische Kriterien der 103 zu untersuchenden Trich.rubrum- und Trich.ment.-Stämme nach endgültiger Einordnung mit Hilfe der Differenzierungstests

	Trich.rubrum	Trich.ment.
Anzahl der Stämme	79	24
Kolonieform:		
- halbkugelig, flaumig	37	-
- flachflaumig m.zentr.Knopf	36	-
- flachflaumig, samtig	2	6
- sandig-gipsig	4	18
Farbe der Oberfläche:		
- weiß	48	-
- gelblich-weißlich	7	9
- weiß m.zartrosa Randzone	15	-
- rötlich/rosa	4	1
- cremefarben	3	10
- hellbraun-graubraun	2	-
- gelbl.Zentr.m.weiß. Rand	-	4
Makrokonidien:	43	12
Spiralhyphen:	1	12
Pigmentbildende Stämme:	3	1
Mikrokonidien:		
- keine	9	-
- wenige	41	1
- nur sektorenw.reichlich	27	7
- reichlich	2	16
Form der Mikrokonidien:	überwiegend länglich,oval, tropfenförmig	überwiegend rund, manchmal oval

Die Veränderungen, die sich aus dieser Umstellung ergeben, sind in der Tab. XIX berücksichtigt. Darin sind sämtliche Reaktionen, die für die entsprechende Art typisch waren, prozentual erfaßt. Anhand dieser Tabelle kann die Brauchbarkeit und Effizienz der Nährmedien bei den untersuchten Stämmen überprüft werden.

Der Haartest bei Trich.rubrum und der Peptonwassertest bei Trich.ment. fallen am deutlichsten ab. Nur der Lipasetest zeigte bei beiden Arten gleich gute Leistungen und ließ bei allen Stämmen auf Grund des Aktivitätsnachweises eine eindeutige und hundertprozentige Aussage über die entsprechende Gattung zu. Der Ureasetest liegt in seiner Brauchbarkeit nur ganz gering hinter dem Lipasetest zurück.

TABELLE XIX

Identifizierung von Trich.rubrum und Trich.ment. anhand von typischen Reaktionsmerkmalen nach endgültiger Einordnung aller Stämme (bei mehr als 6 atypischen Reaktionen eines Stammes erfolgte Einordnung in die andere Gattung)

Nährmedien	Trich.rubrum %	Trich.ment. %	Gesamt %
Peptonwassertest	96,2 (76)	79,2 (19)	92,2 (95)
Glucose-Peptonwassertest	92,4 (73)	95,8 (23)	93,2 (96)
Kartoffel-Glucose-Agar	93,7 (74)	91,7 (22)	93,2 (96)
Ureasetest	98,7 (78)	100,0 (24)	99,0 (102)
Lipasetest	100,0 (79)	100,0 (24)	100,0 (103)
Haartest	75,9 (60)	95,8 (23)	80,6 (83)
Propandiol-Kimmig-Agar	98,7 (78)	87,5 (21)	96,1 (99)
Anzahl der Stämme	79	24	103

( ) : Anzahl der Stämme mit typischen Reaktionen im entsprechenden Nährmedium

5. DISKUSSION

Die Differenzierung der hautpathogenen Pilze Trich. rubrum und Trich.ment. hat sich als schwierig und in der Regel als unzureichend herausgestellt. Trotz jahrelanger großer Anstrengungen vieler Autoren, beide Pilze auf Grund ihrer Morphologie und ihrer physiologischen Merkmale zu trennen, ist es bis heute noch nicht gelungen, Trich.rubrum und Trich.ment. in der Labordiagnostik sicher zu differenzieren. Diese Schwierigkeit spiegelt sich auch in dem großen Schrifttum wider, das diesem Problemenkreis gewidmet ist. Es werden immer wieder Vorschläge gemacht, mittels weiterer Untersuchungen die Genauigkeit der Diagnostik zu verbessern.

Erstes und wichtigstes Kriterium für die Klassifizierung ist die Morphologie der verschiedenen Pilzstämme. Typisch wachsende Trich.rubrum-Stämme zeigen meist wollig-flaumiges Luftmycel, während typische Trich.ment.-Stämme überwiegend gipsig-sandiges, meist flaches Wachstum aufweisen. Beide Stämme neigen zu Variationsformen.

Eine Einordnung der Trich.ment.- und Trich.rubrum-Stämme anhand des mikromorphologischen Bildes wird u.a. von BÖHME und FRIEDRICH (19), POLEMANN (78) und

BLASCHKE-HELLMESSEN (14) vorgeschlagen. So bildet Trich.ment. zahlreich runde bis tropfenförmige Mikrokonidien, die meist in Haufen oder entlang der Hyphen sitzen, Trich.rubrum dagegen spärlich bis zahlreich ovale bis längliche Mikrokonidien, die sich vorwiegend entlang der Hyphen und selten in Haufen angeordnet finden.

BENHAM (12) sieht ferner in der Form der Makrokonidien ein zusätzliches Differenzierungsmerkmal beider Stämme: Trich.ment. soll kurze, dicke und keulenförmige Makrokonidien bilden, während bei Trich.rubrum schlanke, bleistiftförmige Makrokonidien zu beobachten seien. Zur Förderung der Makrokonidienbildung schlägt er einen Tryptose-Agar vor.

Die hier vorliegenden eigenen Versuchsergebnisse erlauben keine generelle Bestätigung dieser Unterscheidungsmerkmale. Von 103 zu untersuchenden Stämmen waren 75 Trich.rubrum-Stämme und 24 Trich.ment.-Stämme eindeutig identifiziert worden, 4 Stämme wurden fehldiagnostiziert. Dabei war eine Einordnung der Stämme anhand der Mikrokonidienformen, wie sie von BÖHME und FRIEDRICH, POLEMANN und BLASCHKE-HELLMESSEN vorgeschlagen wird, nur annähernd möglich. Die für Trich. ment. typischen Formen sind öfters bei Trich.rubrum zu finden und umgekehrt; das reichliche Vorkommen von

Mikrokonidien bei Trich.ment.-Stämmen war ebenfalls bei Trich.rubrum-Stämmen zu beobachten, da jedoch meist nur sektorenweise.

Die unterschiedliche Form der Makrokonidien konnte bei den untersuchten Stämmen nicht als Differenzierungsmerkmal verwendet werden. Manche Stämme zeigten keine Makrokonidienbildung, andere wiederum die typische Form der anderen Gattung. AJELLO und GEORG (4), sowie DYSON und LANDAY (26) stellten ebenfalls fest, daß die Form der Makrokonidien der jeweiligen Art nicht immer charakteristisch und daher dieses Merkmal auch mit Vorbehalt zu bewerten ist.

Die eigenen Versuchsergebnisse erlauben keine eindeutige Beurteilung ausschließlich anhand des mikromorphologischen Befundes. Beide zusammen - die makro- und die mikromorphologische Beurteilung - ermöglichen eine relative Einordnung der Trich.ment.- und Trich. rubrum-Stämme.

Bei der Fehldiagnose von 4 Stämmen auf Grund des morphologischen Bildes handelte es sich um Trich.rubrum-Stämme mit gipsiger Wuchsform. In einem Fall konnten sogar Spiralhyphen gefunden werden. Alle 4 Stämme zeigten in ihren physiologischen Eigenschaften typisches Trich.rubrum-Verhalten. Die große Schwierigkeit

der Artbestimmung kommt bei Trich.ment.-Stämmen mit wollig-flaumigem Luftmycel und - wie oben beschrieben - bei Trich.rubrum-Stämmen mit gipsiger Wuchsform zum Ausdruck. Beide Arten neigen zur Variabilität und können viele Zwischenformen entwickeln. Bei diesen Variationen und Zwischenformen überschneiden sich jedoch die Kriterien und lassen eine falsche Differenzierung zu, so daß eine ausschließlich auf morphologischen Eigenschaften beruhende Trennung beider Gattungen nicht zuverlässig genug erscheint. Viele Autoren haben sich dazu schon geäußert und die Variationsbreite und den pleomorphen Charakter solcher Stämme ausführlich erörtert (13, 28, 49, 76, 90, 94, 101, 102).

UECKERT und RÖHRBORN (102) schlagen daher zur systematischen Klassifizierung der Dermatophyten vor, mehrere standardisierte Nährböden zu benutzen, will man nicht Gefahr laufen, unterschiedliche Modifikationen einer Art als verschiedene Arten zu klassifizieren. Geringfügige Änderungen des Milieus (Luftfeuchtigkeit, Temperatur, pH-Wert, chemische Zusammensetzung des Nährbodens, usw.) bewirken einen Wandel der Kolonieform (56, 94, 95, 101, 102). Die Fehldiagnose von 4 Trich. rubrum-Stämmen mit gipsiger Wuchsform in den eigenen Versuchen zeigt daher die Problematik einer Einteilung nur anhand makro- und mikromorphologischer

Eigenschaften mit aller Deutlichkeit auf.

Auf Grund dieser auch von anderen Untersuchern gewonnenen Erkenntnisse wurden Nährmedien entwickelt, die die unterschiedlichen physiologischen Eigenschaften von Trich.ment. und Trich.rubrum entsprechend deutlich zum Ausdruck bringen sollten.

GÖTZ (43) schlägt eine 10 %ige Peptonlösung zur Differenzierung vor, in der Trich.ment.-Stämme nur auf der Oberfläche und Trich.rubrum-Stämme nur auf dem Boden wachsen sollen. REICHENBERGER (82) vergleicht die Aussagekraft des Peptonwassertestes nach GÖTZ mit der des Haarperforationstestes und sieht darin eine zuverlässige Methode zur Klassifizierung beider Arten. BLASCHKE-HELLMESSEN (14) sieht in der GÖTZ'schen Bewertung kein absolut zuverlässiges Kriterium zur Trennung beider Arten.

Die eigenen Versuchsergebnisse mit der 10 %igen Peptonlösung lassen ebenfalls keine sichere Trennung beider Gattungen zu, wenn ein Ablesemodus, wie von GÖTZ vorgeschlagen, nämlich Wachstum auf Boden- oder Oberfläche, zugrunde gelegt wird. Nur insgesamt 56 von 79 Trich.rubrum-Stämmen (70,9 %) wuchsen auf dem Boden, 17 Stämme zeigten nur Oberflächenwachstum. Bei den Trich.ment.-Stämmen wuchsen von 24 Stämmen

18 auf der Oberfläche, 5 submers und 1 Stamm sowohl submers als auch auf der Oberfläche.

Diese Ergebnisse entsprechen bei der GÖTZ'schen Ablesemethode ungefähr denen von MEINHOF (72) und SCHAULOW (93), die ebenfalls bei einem Teil ihrer Trich.rubrum-Stämme Oberflächenwachstum und bei einigen Trich.ment.-Stämmen submerses Wachstum fanden. Bei REFAI und RIETH (80) wuchsen alle 45 Trich.ment.-Stämme auf der Oberfläche, während nur 77 von 109 Trich.rubrum-Stämmen submerses Wachstum zeigten.Die restlichen 32 Trich.rubrum-Stämme zeigten Wachstum auf der Oberfläche der Nährlösungen.

Dieses relativ gehäufte Oberflächenwachstum von Trich.rubrum-Stämmen veranlaßten REFAI, RIETH und ITO (81), der Wachstumsform auf der Oberfläche der Nährlösung eine besondere Bedeutung beizumessen. Der unterschiedliche Wuchs von Trich.ment. und Trich. rubrum ließ eine deutlich bessere Auswertung dieses Differenzierungstestes zu. Zwar können die von REFAI, RIETH und ITO gemachten Erfahrungen - sie konnten alle ihre Stämme mit Hilfe ihrer Ablesemethodik identifizieren - mit dem eigenen Untersuchungsmaterial nicht ganz bestätigt werden, so ist dennoch gegenüber der Bewertung nach GÖTZ ein deutlich besseres Ergebnis bei der Trennung beider Arten zu erzielen.

ZIPRKOWSKI et al. (119) schlagen zur besseren Differenzierung eine Modifizierung der GÖTZ'schen Nährlösung vor: 4 % Glucose - 1 % Pepton-Wasserlösung. Die Autoren bekamen bei Trich.rubrum 92,5 % und bei Trich.ment. 96,5 % eindeutige Ergebnisse - bei einer Bewertung des Wachstums auf Boden oder Oberfläche, so wie es GÖTZ vorschlägt.

Die von ZIPRKOWSKI mit seiner modifizierten Nährlösung erzielten Werte können durch die eigenen Versuchsergebnisse nicht bestätigt werden: nur 12 der 79 Trich.rubrum-Stämme (15,2 %!) wuchsen auf dem Boden, während keiner der Trich.ment.-Stämme ausschließlich submerses Wachstum zeigte (2 Stämme wuchsen sowohl submers als auch auf der Oberfläche). Die Bewertung der eigenen Versuche unter Berücksichtigung der von REFAI, RIETH und ITO gemachten Erfahrungen ergibt dagegen für Trich.rubrum 92,4 % und für Trich.ment. 95,8 % eindeutige Identifizierung. Diese Werte stehen jedoch in keinem Verhältnis zu denen von ZIPRKOWSKI, da eine unterschiedliche Ablesemethodik angewandt wurde.

Die beiden Nährlösungen - die 10 %-Peptonwasserlösung nach GÖTZ und die von ZIPRKOWSKI modifizierte 4 %-Glucose-1 %-Peptonwasserlösung - unterscheiden sich in ihrer Aussagekraft nur sehr geringfügig.

Die vorliegenden Versuchsergebnisse und die Abweichungen der Ergebnisse verschiedener Autoren mit dem Peptonwassertest lassen vermuten, daß möglicherweise eine unzureichende Standardisierung bei der Versuchsdurchführung die Ursache für die verschiedenartigen Resultate ist. So ist es gut möglich, daß nur bestimmte Peptone oder Mischungen von verschiedenen Peptonarten (14, 46) für diesen Test geeignet sind.

Auffällig verhielten sich einige unserer Stämme in der Glucose-Peptonwasserlösung: 8 Trich.rubrum-Stämme, die zunächst Oberflächenwachstum zeigten, wuchsen meist girlandenförmig am Rande des Reagensglases entlang in die Tiefe der Nährlösung. Es bleibt zu überprüfen, worauf dieses auffällige Wachstum beruht, welcher Reiz ausschlaggebend für dieses plötzliche Tiefenwachstum ist, welche pH-Änderung die Nährlösung bei Wachstum in die Tiefe erfährt, welcher Unterschied im Mycel der Oberfläche und dem in der Nährlösung besteht, warum dieses Phänomen nur bei Trich. rubrum-Stämmen zu finden ist und nicht bei Trich. ment., usw.

Nicht eine Wachstumsförderung, sondern eine Wachstumshemmung liegt Versuchen von REMMECKE (85) zugrunde. Er fand im Rahmen einer Arbeit mit dem Ziel, Pilzkulturen für eine Mykothek länger haltbar zu

machen, daß die Zugabe von 5 % Propandiol - 1,2 zu Kimmig-Agar eine Differenzierung von Trich.ment. und Trich.rubrum zuläßt. Bei eigenen Versuchen mit diesem Nährmedium gelang bei 78 von 79 Trich.rubrum-Stämmen eine Wachstumshemmung, nur 1 Stamm wuchs ungehemmt. 21 der 24 Trich.ment.-Stämme zeigten ebenfalls ungehemmtes Wachstum. 3 Stämme wuchsen zwar gehemmt, bildeten aber ein recht hohes, kartonähnliches Mycel, das sich von dem der anderen ebenfalls gehemmt wachsenden Stämme deutlich unterschied.

Die von REMMECKE gemachten Aussagen über die Farbe der Oberfläche der Pilzkolonien können nach der eigenen Erfahrung nur bei Trich.ment., aber auch da nicht in allen Fällen bestätigt werden. Die Hälfte der Trich.rubrum-Stämme zeigte die von REMMECKE angegebene blaß-violette Oberfläche, die anderen Stämme waren meist weißlich.

Dennoch war es anhand dieses Testes, der leicht im Laboratorium durchgeführt werden kann, möglich, 99 der 103 untersuchten Stämme (96,1 %) zu identifizieren. Es bleibt zu überprüfen, inwieweit sich das mikromorphologische Bild der Pilzkulturen bei Wachstumshemmung auf diesem Nährmedium verändert und dadurch vielleicht eine zusätzliche Hilfe bei der Differenzierung beider Arten - neben dem makroskopi-

schen Bild - bringt.

Einen auffälligen Unterschied in der Pigmentbildung und eine Erleichterung bei der Differenzierung von Trich.ment.- und Trich.rubrum-Stämmen glauben BÖHME und FRIEDRICH (19) im Kartoffel-Glucose-Agar nach RIVALIER und SEYDEL gefunden zu haben. Alle ihre 320 untersuchten Stämme konnten mit Hilfe der Farbstoffbildung auf diesem Agar sicher bestimmt werden.

MEINHOF et al. (72) gelangten bei Benützung des Kartoffel-Glucose-Agars zur Trennung beider Arten zu dem Ergebnis, daß das Ausbleiben der Pigmentbildung auf diesem Nährmedium ein relativ sicheres Kennzeichen für Trich.ment. ist, während die Bildung von Pigment ein Trich.ment. nicht sicher ausschließt.

Anstelle des von EDGECOMBE vorgeschlagenen "Potatodextrose-Agar" (27) und des o.g. Kartoffel-Glucose-Agars nach RIVALIER und SEYDEL wurde bei unseren Versuchen ein Fertignährboden der Firma MERCK verwendet, der im übrigen auch zu einer anderen Verwendung angeboten wird. Vorversuche hatten ergeben, daß die Pigmentstimulation auf dem genannten Fertignährboden einwandfrei zu erzielen war.

Das von BÖHME und FRIEDRICH erzielte eindeutige Er-

gebnis auf dem Kartoffel-Glucose-Agar ließen die hier untersuchten Stämme nicht zu. Die Pigmentstimulation von Trich.rubrum konnte nicht als durchweg typisches Kriterium für diesen Stamm angesehen werden. Fast alle untersuchten Stämme - sowohl Trich.ment.- als auch Trich.rubrum-Stämme - zeigten eine deutliche Pigmentbildung auf diesem Nährmedium; kein Pigment bildeten 4 Stämme. Im Gegensatz zu BÖHME und FRIEDRICH befand sich in unserem Untersuchungsmaterial - wie auch bei MEINHOF et al. - ein Trich.rubrum-Stamm ohne Pigmentbildung. Das für Trich.rubrum charakteristische Pigment besaß zwar eine deutlichere und intensivere Rötung, die oft weit in den Agar hineindiffundierte, während die Pigmentbildung der Trich. ment.-Stämme eher rotbraun bis bräunlich-gelblich war. Dennoch konnte nur mit Hilfe der Pigmentstimulation eine eindeutige Differenzierung beider Arten nicht sicher vorgenommen werden. Zu dieser Erkenntnis gelangten auch AJELLO und GEORG (4) und BLASCHKE-HELLMESSEN (14).

Ein sehr wichtiges und bei der Identifizierung mitentscheidendes Merkmal war die Wachstumsform beider Gattungen in unseren Versuchen. 77 von 79 Trich. rubrum-Stämmen zeigten auf der Kulturunterseite auffallend ringförmiges bzw. kokardenartiges Wachstum mit breiten oder schmalen Ringen. Die einzelnen Zonen

gingen entweder deutlich oder unscharf ineinander über. Die meisten Trich.ment.-Stämme (22 von 24) dagegen wuchsen vom Zentrum aus strahlenartig und verästelnd. Anhand dieses Kriteriums und der Pigmentbildung konnten 74 von 79 Trich.rubrum-Stämmen (93,7 %) und 22 von 24 Trich.ment.-Stämmen (91,7 %) genau bebestimmt werden.

Dieses Ergebnis spricht dafür, daß bei der Beurteilung der einzelnen Stämme nicht nur die Pigmentstimulation, sondern immer auch die jeweilige Wachstumsform ein wichtiges Merkmal darstellt - vor allem bei pigmentbildenden Trich.ment.-Stämmen. Es gilt abzuwarten, inwiefern dieses Wachstumsmerkmal neben der Pigmentbildung auf anderen Kartoffel-Glucose-Nährböden zu beobachten und bei der Beurteilung der Stämme mit zu verwerten ist.

Der Haarperforationstest nach AJELLO und GEORG brachte die schlechtesten Ergebnisse:
Insgesamt 19 typische Trich.rubrum-Stämme zeigten Perforationszapfen, nur bei einem Trich.ment.-Stamm war keine Perforationsbildung zu beobachten. In der Intensität des Haarbefalls, der Perforationsgeschwindigkeit und -organe war ein gewisser Unterschied zu beobachten, jedoch konnte eine einheitliche und sichere Trennungsmethode nicht klar festgestellt

werden. So bildeten z.B. einige Trich.rubrum-Stämme die für Trich.ment. typischen keilförmigen Perforationszapfen. Ca. 25 % der untersuchten Stämme bestätigten die für sie als charakteristisch angegebene Eigenschaft bezüglich des Haarperforationstestes nicht.

Dieses Ergebnis stimmt mit dem von LANGER und BÖHME (66) überein, bei denen mehr als 20 % der Trich. rubrum-Stämme ebenfalls Perforationen zeigten und ein Trich.ment.-Stamm die Bildung von Perforationszapfen vermissen ließ.

DE VRIES (107), FRITSCH (39), ENGLISH (30) u.v.a. übten schon früher Kritik am Haarperforationstest. Auf Grund ausgedehnter Versuchsreihen kamen sie zu der Erkenntnis, daß Trich.rubrum prinzipiell in der Lage ist, Haare in vitro zu perforieren.

ASCHAN-ABERG (5, 6), BARLOW-CHATTAWAY (9), BLASCHKE-HELLMESSEN (14), FRITSCH (39), KUNERT (64), RAUBITSCHEK (79) und vor allem THURNER (99) zeigen anhand ihrer Versuchsreihen, daß der Haartest sehr stark von der Versuchsanordnung (Ruhekultur oder Schüttelkultur), der Beschaffenheit des verwendeten Haarmaterials (Tier- oder Menschenhaar, blondes oder dunkles Haar) und den Nährstoff- und Flüssigkeits-

mengen abhängig ist.

Unsere Wiederholungsversuche mit anderem Haarmaterial bestätigen diese Aussagen. Dabei zeigte nur die Hälfte der untersuchten Stämme die gleichen Ergebnisse wie im ersten Versuch.

MEINHOF et al., die am Haarperforationstest ebenfalls Kritik üben, schlagen zur besseren Standardisierung ein einheitliches Haarmaterial vor. Dies dürfte aber kaum in der Routinediagnostik im Laboratorium zu verwirklichen sein.

Die eigenen Erfahrungen mit diesem Test lassen die von POLEMANN (78), REICHENBERGER (82) und DYSON und LANDAY (26) gemachten Aussagen, der Haartest sei z.Z. die beste Differenzierungsmethode, mit Sicherheit nicht zu.

Als recht zuverlässige Methode zur Unterscheidung von Trich.rubrum und Trich.ment. erwies sich dagegen der Ureasetest nach PHILPOT. Sämtliche Trich.ment.-Stämme bildeten eine intensive Rotfärbung des ganzen Nährbodens nach 6 Tagen; die Trich.rubrum-Stämme zeigten mit einer Ausnahme keine Aktivität. Dieser eine Stamm, der in den übrigen Tests typisches Trich.rubrum-Verhalten zeigte, färbte den Agar um die Pilzkolonie

leicht rot. Diese Rötung erreichte jedoch nie die von Trich.ment.-Stämmen gezeigte intensive Färbung.

Die Ablesezeit nach 6 Tagen stellte sich für die Differenzierung beider Arten als sehr günstig heraus. So war nach 8 bis 10 Tagen bei einigen Trich.rubrum-Stämmen schon eine beginnende Rotfärbung des Nährbodens zu beobachten.

Die Beobachtungen von SCHÖNBORN (96) an bestimmten Trich.rubrum-Varianten (orange Wuchsform, gipsige Form) ergaben einen häufig positiven Ureasetest. Ein Vergleich mit unseren Ergebnissen kann nicht erstellt werden, da in ihrem Versuch die Reaktionen der gipsigen Wuchsformen nach 10 Tagen, in unserem jedoch schon nach 6 Tagen abgelesen wurden.

Die in unserem Erregerspektrum gefundenen Varianten von Trich.rubrum und Trich.ment. zeigten in allen Differenzierungstests entsprechend unseren Kriterien die für sie jeweilige typische Reaktion. Im einzelnen handelte es sich dabei um 2 Trich.rubrum-Stämme mit melanoidem Pigment und 1 Trich.rubrum-Stamm mit gelblich-orangenem Mycel und orangefarbenem, in den Nährboden hineindiffundierendem Pigment. Unter den Trich.ment.-Stämmen befand sich 1 Stamm mit deutlich mittelbrauner, von der Farbe des Nährbodens eindeutig zu

unterscheidender Pigmentierung.

Der Lipasenachweis stellt neben dem Ureasetest einen weiteren Enzymtest dar. Mit Hilfe des verschiedenen Oberflächenwachstums und der Farbveränderung des Indikators im Nährboden ließen sich die Unterschiede in der Lipaseproduktion und in der Lipidspaltung eindeutig nachweisen. Der von BÖHME (18) vorgeschlagene Nährboden erwies sich bei der Differenzierung von Trich.rubrum und Trich.ment. als das beste Nährmedium. Alle untersuchten Stämme konnten mit diesem Test-Agar sicher identifiziert werden.

Im Gegensatz zu den Erfahrungen von MEINHOF et al., die die Reaktionen in diesem Nährmedium nach 6 Tagen auswerteten und 7 Trich.ment.-Stämme mit negativer Lipaseaktivität beobachteten, war in unseren Untersuchungen eine genaue Beurteilung trotz verschiedener Versuchsdurchführungen mit unterschiedlichen pH-Werten erst nach ca. 10 bis 14 Tagen möglich. Die dabei gefundenen Ergebnisse erlaubten eine eindeutige Unterscheidung sämtlicher untersuchten Stämme auf dem Lipase-Agar. Nach unseren Erfahrungen stellt daher der Lipasetest-Agar nach BÖHME mit einer Reaktionsdauer von 14 Tagen ein hervorragendes Nährmedium zur Trennung von Trich.rubrum und Trich.ment. dar - auch bei schwierig einzuteilenden Stämmen.

Beide Enzymtests - der Lipasenachweis nach BÖHME und der Ureasetest nach PHILPOT - zeigten ebenso wie der Kartoffel-Glucose-Fertignährboden in den Wiederholungsversuchen die gleichen Reaktionen wie im 8 Wochen zuvor erfolgten Erstversuch. Ihnen liegen einheitliche, chemisch definierbare Herstellungsmaterialien zugrunde. Dabei ist keine Abhängigkeit vom angebotenen Nährmedium, wie z.B. im Haar- oder Peptonwassertest, gegeben.

Auf Grund vorliegender Versuchsergebnisse und eigener Erfahrungen lassen die typischen Trich.rubrum- und Trich.ment.-Stämme in einigen mikro- und makromorphologischen sowie physiologischen Eigenschaften eine deutliche Unterscheidung zu, so daß eine Einteilung in zwei verschiedene Arten gerechtfertigt erscheint.

Die Überprüfung der morphologischen Beurteilung der untersuchten Pilzstämme war mit dem Lipasetest-Agar und dem Ureasetest-Agar möglich. Überzeugend dabei war neben der guten und relativ schnellen Ablesemöglichkeit die Reproduzierbarkeit der Reaktionsergebnisse und die von unsicheren Faktoren, wie z.B. von Haaren, unabhängige Herstellung beider Nährmedien.

Mit Hilfe von drei Kriterien - Morphologie, Harnstoffspaltung und Lipasenachweis bzw. Lipidspaltung - konnten alle 103 zu untersuchenden Stämme identifiziert und richtig eingeordnet werden.

Es bleibt abzuwarten, ob diese Ergebnisse auch mit einer größeren Anzahl von Stämmen anderer Untersucher gewonnen werden - sowohl von typischen als auch von atypischen Vertretern bzw. Varianten von Trich.ment. und Trich.rubrum.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Anhand der systematischen Einordnung von 79 Trich.rubrum-Stämmen und 24 Trich.ment.-Stämmen werden die Schwierigkeiten bei der Unterscheidung von Trich.mentagrophytes und Trich.rubrum erörtert. Als Kriterium zur Trennung dieser beiden Arten dienten: die Makro- und Mikromorphologie auf Kimmig-Agar, das Wachstum auf Peptonlösung und Glucose-Peptonwasser, die Farbstoffbildung auf Kartoffel-Glucose-Agar, die Ureasereaktion, die Lipasereaktion, das Haarperforationsvermögen und die Wachstumshemmung auf Propandiol-Kimmig-Agar.

Die makroskopische Morphologie der Kolonien diente nur als erstes orientierendes Hilfsmittel bei der Einteilung beider Arten. Die Mikromorphologie erlaubte nähere Differenzierung. Die Form und Anzahl der Mikrokonidien waren jedoch nicht durchweg charakteristisch genug, auch wenn bei Trich.ment. reichliches Vorkommen von Mikrokonidien mit überwiegend runder bis ovaler Form am häufigsten auftrat, während Trich.rubrum keine bis meist wenige Mikrokonidien mit überwiegend länglicher bis tropfenartiger Form zeigte. Spiralhyphen waren fast ausschließlich bei Trich.ment.-Stämmen zu finden. Überschneidungen beider Formen ließen jedoch ein typisches mikromorphologisches Kriterium nur annähernd zu. Auf die Beurteilung der Makrokonidien muß man wegen der Un-

sicherheit ihres Auftretens und der ungenügenden Charakteristik ihrer Form meistens verzichten.

99 Stämme konnten auf Grund der Morphologie eindeutig identifiziert werden, 4 Stämme wurden fehldiagnostiziert. Dabei handelte es sich um Trich.rubrum mit gipsiger Wuchsform. Weitere Besonderheiten innerhalb des Erregerspektrums stellten 2 Trich.rubrum-Stämme mit melanoidem Pigment, 1 weiterer Trich.rubrum-Stamm mit orangefarbenem Mycel und gleichfarbiger Pigmentierung des Nährbodens, sowie 1 Trich.ment.-Stamm mit mittelbrauner Pigmentierung des Nährbodens dar. Sämtliche Varianten zeigten in allen Differenzierungstests die für sie typischen Reaktionen. Bei 50 Trich.rubrum- und 16 Trich.ment.-Stämmen fielen alle 7 Reaktionen typisch aus. 26 Stämme reagierten einmal, 10 zweimal und 1 Stamm dreimal atypisch.

Der Peptonwassertest zeigt ebenso wie der Glucose-Peptonwassertest bei einem alternativen Ablesemodus von Boden- oder Oberflächenwachstum ungenügende Ergebnisse. Deutlich bessere Resultate bringt die zusätzliche Beurteilung der unterschiedlichen Oberflächenwachstumsform beider Arten. Dennoch konnten nur 92,2 % bzw. 93,2 % aller Stämme mit diesen Nährlösungen eindeutig identifiziert werden. Auf das schraubenförmige Tiefenwachstum einiger zunächst oberflächlich wachsender Trich.rubrum-Stämme in der Glucose-Peptonlösung wird hingewiesen.

Auch die Pigmentbildung auf dem Kartoffel-Glucose-Agar erweist sich bei der Differenzierung als nicht hinreichend zuverlässig. Nur 4 aller untersuchten Stämme zeigten kein Pigment. Die Farbstoffbildung beider Arten zeigte zwar geringfügige Abweichungen, ließ aber eine deutliche Trennung nicht zu. Die zusätzliche Bewertung der Wachstumsform brachte eine entscheidende Erleichterung: Trich.rubrum zeigte kokardenartiges, Trich.ment. strahlenartiges, verästelndes Wachstum. Nur Pigmentbildung in Verbindung mit der Wachstumsform erlaubte eine ausreichende Beurteilung.

Die praktische Verwertbarkeit des Haartests zu diagnostischen Zwecken muß bezweifelt werden. 19 von 79 Trich. rubrum-Stämmen, die in allen anderen Tests typische Reaktionen zeigten, bildeten Perforationszapfen. Der Haartest lieferte insgesamt die ungünstigsten Ergebnisse aller Differenzierungsmethoden. Die Schwierigkeit der Standardisierung bei diesem Test wurde diskutiert.

Die Wachstumshemmung von Trich.rubrum auf Kimmig-Agar mit Zusatz von Propandiol erweist sich als durchaus brauchbares Kriterium bei der Unterscheidung von Trich. rubrum und Trich.ment. Insgesamt 99 Stämme konnten richtig identifiziert werden (96,1 %). Eine Untersuchung charakteristischer mikromorphologischer Merkmalsausbildungen bei Wachstumshemmung wurde angeregt.

Der Urease- und der Lipasetest liefern zuverlässige Ergebnisse. Lediglich 1 Trich.rubrum-Stamm zeigte im Ureasetest geringfügige Rötung des Nährbodens, die aber nie die Intensität des von Trich.ment.-Stämmen gebildeten Indikatorumschlags erreichte. Mit Hilfe des Lipasetests konnten alle Stämme sicher und problemlos bestimmt werden.

Die Anwendung verschiedener Untersuchungsmethoden (Morphologie, Lipase- und Ureasereaktion) bei der Differenzierung von Trich.rubrum und Trich.ment. wird empfohlen.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. ADAM, W., K. STEITZ — Zur Testung von Dermatophyten auf ihre Empfindlichkeit gegen Griseofulvin. Ärztl. Forsch. 14,: 144-147 (1960)

2. AJELLO, L. — A taxonomic review of the dermatophytes and related species. Sabouraudia 6,: 147-159 (1968)

3. AJELLO, L. — Natural history of the dermatophytes and related fungi. Mycopathologia (Den Haag) 53,: 93-110 (1974)

4. AJELLO, L., L. K. GEORG — In vitro hair cultures for differentiating between atypical isolates of Trichophyton mentagrophytes and Trichophyton rubrum. Mycopathologia (Den Haag) 8,: 3-17 (1957)

5. ASCHAN-ABERG, K., N. THYRESSON — Hair perforation and Griseofulvin sensitivity in routine control of Trichophyton rubrum and Trichophyton mentagrophytes. Acta derm.-venereol. (Stockh.) 44,: 233-239 (1964)

6. ASCHAN-ABERG, K., N. THYRESSON
The hair perforation test for separation of Trichophyton mentagrophytes and Trichophyton rubrum.
Acta derm.-venereol. (Stockh.) 44,: 429-430 (1964)

7. BALABANOFF, V. A.
Adaptionsphasen der Dermatophyten unter Berücksichtigung ihrer phylogenetischen Entwicklung und ihrer Klassifizierung.
Mykosen 11,: 127-142 (1968)

8. BALABANOFF, V. A.
Zur physiologischen Differenzierung einiger Dermatophyten und Schimmelpilzarten.
Mykosen 13,: 79-84 (1970)

9. BARLOW, A. J. E., F. W. CHATTAWAY
The attack of chemically modified Keratin by certain dermatophytes.
J. invest. Derm. 24,: 65-74 (1955)

10. BAXTER, M.
The stimulation of Pigment production by Trichophyton rubrum on a new medium.
Sabouraudia 3,: 72-80 (1963)

11. BAXTER, M., P. R. MANN
Electron microscopic studies of the invasion of human hair in vitro by three Keratinophilic fungi.
Sabouraudia 7,: 33-37 (1969/70)

12. BENHAM, R. W. Effect of nutrition on growth and morphology of the dermatophytes
1. Development of macroconidia in Trichophyton rubrum.
Mycologia 40,: 232-240 (1948)

13. BISTIS, G. N. Pleomorphism and growth cycles in Trichophyton mentagrophytes.
Mycologia 52,: 394-409 (1961)

14. BLASCHKE-HELLMESSEN, R. Über Schwierigkeiten bei der Untersuchung von Trichophyton mentagrophytes und Trichophyton rubrum.
Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 191,: 543-555 (1964)

15. BLASCHKE-HELLMESSEN, R. Zur Pilzflora bei Dermatomykosen in der Ostoberlausitz von 1962 bis 1967 unter besonderer Berücksichtigung der Verbreitung von Trichophyton rubrum und Trichophyton mentagrophytes.
Mykosen 11,: 545-560 (1968)

16. BOCOBO, F. C., R. W. BENHAM Pigment production in the differentiation of Trichophyton mentagrophytes and Trichophyton rubrum.
Mycologia 41,: 291-302 (1949)

17. BÖHME, H.
Über die Dermatophytenflora von Berlin (1955 bis 1964). Derm. Wschr. 152,: 873-878 (1966)

18. BÖHME, H.
Unterschiede in der Verwertung von Lipiden durch Trichophyton rubrum und Trichophyton mentagrophytes. Derm. Mschr. 159,: 699-704 (1973)

19. BÖHME, H., E. FRIEDRICH
Erfahrungen mit einer einfachen Methode zur Unterscheidung von Trichophyton rubrum und Trichophyton mentagrophytes. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 183,: 541-553 (1962)

20. BÖHME, H., H. ZIEGLER
Keratinabbau durch Pilze. Arch. Mikrobiol. 57,: 93-110 (1967)

21. BRAUN, W., G. KRENTEL
Die Frequenz der Dermatomykosen der Hautklinik Magdeburg im Berichtsjahr 1962. Mykosen 8,: 136-156 (1965)

22. CABRITA, J., M. M. FIGUEIREDO
Dermatophytes in Portugal. Sabouraudia 11,: 21-29 (1973)

23. CHATTAWAY, F. W., D. A. ELLIS, A. J. E. BARLOW
Peptidases of dermatophytes. J. invest. Derm. 41,: 31-37 (1963)

24. CONANT, N. F., D. T. SMITH, R. D. BAKER, J. L. CALLAWAY, D. S. MARTIN
Manual of clinical mycology. 2nd ed. Saunders, Philadelphia (1954)

25. DANEW, P., E. FRIEDRICH, H.-G. MANNSFELDT
Untersuchungen zur Peptidaseaktivität hautpathogener Pilze. Derm. Mschr. 157,: 232-238 (1971)

26. DYSON, J. E., M. E. LANDAY
Differentiation of Trichophyton rubrum from Trichophyton mentagrophytes. Mycopathologia (Den Haag) 20,: 81-97 (1963)

27. EDGECOMBE, A. E.
Trichophyton purpureum (Bang) and Trichophyton gypseum (Bodin). Differentiation in culture. Arch. Derm. Syph. (Chic.) 46,: 651-660 (1942)

28. EMMONS, C. W.
Pleomorphism and variation in the dermatophytes. Arch. Derm. Syph. (Chic.) 25,: 987-1001 (1932)

29. EMMONS, C. W.
Dermatophytes. Natural grouping based on the form of the spores and accessory organs. Arch. Derm. Syph. (Chic.) 30,: 337-362 (1934)

30. ENGLISH, M. P. The saprophytic growth of Keratinophilic fungi on Keratin. Sabouraudia 2,: 115-130 (1963)

31. ENGLISH, M. P. Variation in Trichophyton rubrum as seen in a routine diagnostic service. Sabouraudia 3,: 205-210 (1964)

32. FEGELER, F. Untersuchungen zur Epidemiologie der Epidermophytien mit besonderer Berücksichtigung des Trichophyton rubrum (Castellani). Arch. klin. exp. Derm. 203,: 570-576 (1956)

33. FEGELER, F. Zur Pilzflora Westfalens. Z. Haut-Geschl. Kr. 25,: 244-251 (1958)

34. FEGELER, F. Zum heutigen Erscheinungsbild der Dermatomykosen und ihren Erregern. Arch. klin. exp. Derm. 213,: 688-695 (1961)

35. FRIEDRICH, E. Perforation von Frauenhaar durch Dermatophyten. (1. Mitteilung) Z. Haut-Geschl. Kr. 36,: 39-44 (1964)

36. FRIEDRICH, E. — Perforation von Frauenhaar durch Dermatophyten. (2. Mitteilung) Mykosen 7,: 53-63 (1964)

37. FRIEDRICH, E., CH. HEISE — Dermatophytennachweis, Fortschritte und Probleme. Derm. Mschr. 160,: 812-817 (1974)

38. FRIEDRICH, E., H. KRUSE — Zur Dermatophytenflora von Halle. Hautarzt 15,: 358-362 (1964)

39. FRITSCH, P. — Auswirkungen einiger Milieufaktoren auf die Bildung von Haarperforationen durch Trichophyton mentagrophytes und Trichophyton rubrum. Mykosen 10,: 105-116 (1967)

40. GANOR, S. — Dermatophyte species and microscopic examination. Sabouraudia 9,: 245-247 (1971)

41. GEORG, L. K. — The relationship between the downy and granular forms of Trichophyton mentagrophytes. J. invest. Derm. 23,: 123-141 (1954)

42. GEORG, L. K., L. B. CAMP — Routine nutritional tests for the identification of dermatophytes. J. Bact. 74,: 113-121 (1957)

43. GÖTZ, H.
Klinische und experimentelle Untersuchungen über die Hautpilzkrankheiten im Gebiet von Hamburg 1948-1950. Arch. Derm. Syph. (Berl.) 195,: 1-76 (1952/53)

44. GÖTZ, H.
Beitrag zur gehäuften Auffindung des Trichophyton rubrum (Epidermophyton rubrum Castellani) in der Gegenwart. Z. Haut-Geschl. Kr. 25,: 93-99 (1958)

45. GRIGORAKIS, L.
Dermatophytes et dermatomycoses. Ann. Derm. Syph. (Paris) 10,: 18-68 (1929)

46. GRUNBERG, E., E. TITSWORTH
The effect of animal and plant peptones on the development of the Pigment of Trichophyton purpureum. J. invest. Derm. 20,: 197-200 (1953)

47. HAZEN, E. L., F. C. REED
Laboratory identification of pathogenic fungi simplified. Chas. C. Thomas, Publ. 2nd Edit. (1960)

48. HEBER, W., D. REINEL, W. VOGEL
Über die Tineamorbidität bei See- und Landeinheiten der Bundeswehr. Mykosen 18,: 435-442 (1975)

49. HEJTMANEK, M. Über die morphologische und genetische Charakteristik des Pleomorphismus. Mycopathologia (Den Haag) 23,: 99-110 (1964)

50. HÖFER, W., H. G. WOHLFARTH Wandlung der Pilzflora im Zwickauer Einzugsgebiet. Derm. Wschr. 152,: 878-883 (1966)

51. HOFFMANN-OSTENHOF, O. Enzymologie. Springer-Verl. Wien (1954)

52. ITO, K., H. RIETH Medizinische Mykologie, 2. Mitteilung: Geschichte der Systematik der Dermatophyten. Bull. pharm. Res. Inst. 15,: 14-21 (1958)

53. ITO, K., H. RIETH Medizinische Mykologie, 1. Mitteilung: Allgemeines zur Systematik der Dermatophyten. Bull. pharm. Res. Inst. 16,: 19-35 (1958)

54. KABEN, U. Dermatomykosen und Dermatophytenflora im Einzugsgebiet der Univ.-Hautklinik Rostock in den Jahren 1961 bis 1965 (unter besonderer Berücksichtigung von T.r.-Stämmen mit melanoidem Pigment). Derm. Wschr. 153,: 1112-1122 (1967)

55. KACHNIC, M. Die Pilzkrankheiten und die Änderungen der Pilzflora in der Ostslowakei im Zeitraum von 1954 bis 1966. Mykosen 10,: 577-581 (1967)

56. KAFFKA, A., H. RIETH Trichophyton mentagrophytes-Varianten bei Laboratoriumstieren. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 177,: 96-106 (1960)

57. KLEINE-NATROP, H. E., J. HEIDENBLUTH Pilzerkrankungen der Haut und pathogene Pilzflora im Dresdner Raum (Anfang 1960 bis Ende 1963). Derm. Wschr. 151,: 529-539 (1965)

58. KNOX, G. The isolation of strains of Trichophyton rubrum which produce a melanin-like substance in culture media. Amer. J. med. Technol. 27,: 287-291 (1961)

59. KOCH, H. A. Zur Flora pathogener Pilze von Thüringen (I. Dermatophyten). Derm. Wschr. 151,: 998-1002 (1965)

60. KOCH, H. A. Zur Klassifizierung der Dermatophyten. Mykosen 11,: 879-881 (1968)

61. KOCH, H. A. — Bestimmung von Trichophyton rubrum und Trichophyton mentagrophytes. Mykosen 15,: 337-338 (1972)

62. KOCH, H. A. — Leitfaden der medizinischen Mykologie. Fischer-Verl. Stuttgart (1973)

63. KRIESTER, CH., R. KADEN — Epidemiologische Untersuchungen der Dermatomykosen im Berliner Raum. Mykosen 10,: 509-522 (1967)

64. KUNERT, J. — Zur Mikromorphologie des Haarabbaus durch Dermatophyten in vitro. Derm. Wschr. 153,: 1141-1150 (1967)

65. LANDAY, M. E., J. E. DYSON — Relationship of Trichophyton mentagrophytes to Trichophyton rubrum as shown by agargel diffusion techniques. Bact. Proc. 61,: 121 (1961)

66. LANGER, H., H. BÖHME — Die Art des Haarbefalls in vitro durch Trichophyton mentagrophytes und Trichophyton rubrum. Mykosen 8,: 2-9 (1965)

67. LANGERON, M., R. VANBREUSEGHEM — Prêcis de Mycologie. Masson et Cie. Paris (1952)

68. LEWIS, G. M., M. E. HOPPER
Pigment production by fungi. I. Nutritional requirements. Arch. Derm. Syph. (Chic.) 44,: 453-462 (1941)

69. LOEFFLER, W.
Ein einfaches Verfahren zum Erkennen von Dermatophyten. Vortrag an der 6. Tagung der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft, Wien (16.7.1966)

70. MALLINCKRODT-HAUPT, A. v.
Die Protease der pathogenen Hautpilze. Arch. Derm. Syph. (Berl.) 154,: 493-508 (1928)

71. MEINHOF, W., A. WISKEMANN
Untersuchungen über die Wirkung von Beta-Strahlen auf Dermatophyten. II. Mitteilung: Strahleninduzierte Mutationen. Arch. klin. exp. Derm. 223,: 199-216 (1965)

72. MEINHOF, W., CH. SCHERWITZ, K. PUPAIBUL
Vergleichende Untersuchungen physiologischer Merkmale zur Identifizierung von Trichophyton rubrum und Trichophyton mentagrophytes. Arch. Derm. Forsch. 248,: 247-256 (1973)

73. MERCK, E.
Mikrobiologisches Handbuch. E. Merck, Darmstadt (1975)

74. OTCENASEK, M., J. DVORAK
Griseofulvin - Sensitivitätstest in vitro als Hilfsmethode zur Unterscheidung von Trichophyton rubrum und Trichophyton mentagrophytes. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 217,: 96-103 (1971)

75. OTCENASEK, M., J. DVORAK
Ecological classification of dermatophytes. Mykosen 18,: 425-434 (1975)

76. PALDROK, H.
On the variability and classification of dermatophytes. Acta derm.-venereol. (Stockh.) 33,: 1-50 (1953)

77. PHILPOT, CH.
The differentiation of Trichophyton mentagrophytes from Trichophyton rubrum by a simple Urease-test. Sabouraudia 5,: 189-193 (1967)

78. POLEMANN, G.
Klinik und Therapie der Pilzkrankheiten. Thieme-Verl. Stuttgart (1961)

79. RAUBITSCHEK, F., R. EVRON
Experimental invasion of hair by dermatophytes. Arch. Derm. Syph. (Chic.) 88,: 837-845 (1963)

80. REFAI, M., H. RIETH
Änderung des pH-Wertes der Nährböden durch Dermatophyten. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 194,: 114-121 (1964)

81. REFAI, M., H. RIETH, K. ITO
Zur Identifizierung von Trichophyton mentagrophytes und Trichophyton rubrum auf Glukose- und Peptonlösung. Bull. pharm. Res. Inst. 57,: 1-9 (1969)

82. REICHENBERGER, M.
Über die Dermatophyten im Raum von Essen 1962/63 mit besonderer Berücksichtigung der Methoden zur Abgrenzung des Trichophyton rubrum vom Trichophyton mentagrophytes. Derm. Wschr. 149,: 321-327 (1964)

83. REISS, F., L. CAROLINE
The effect of Trimeton maleate on fungus growth and Pigment production. Bact. Proc. 50,: 142 (1950)

84. REISS, F., L. LEONARD
A contribution to the study of pleomorphism. Acta derm.-venereol. (Stockh.) 37,: 149-154 (1957)

85. REMMECKE, J. Experimentelle Untersuchung der Auswirkungen hygroskopisch wirkender Nährbodenzusätze auf Wachstum und Erhaltung von Pilzkulturen. E. Rodenwaldt-Archiv 2,: 97-104 (1975)

86. RIETH, H. Zur Systematik der Dermatophyten. Arch. Derm. Syph. (Berl.) 199,: 134-145 (1955)

87. RIETH, H. Diagnostik und Therapie der Mykosen. Fortschr. Med. 83,: 727-731 (1965)

88. RIETH, H. Resistenz-Tests mit Erregern von Fußmykosen. Arch. klin. exp. Derm. 227,: 614-617 (1966)

89. RIETH, H. Dermatophyten, Hefen und Schimmelpilze auf Kimmig-Agar. Mykosen 12,: 73-74 (1969)

90. RIETH, H. Variable Oberflächengestaltung von Dermatophytenkolonien auf künstlichen Nährböden unter anscheinend gleichen äußeren Bedingungen am Beispiel von Trichophyton rubrum, Mikrosporum gypseum und Keratinomyces Ajelloi. Mykosen 12,: 247-248 (1969)

91. RIETH, H., H.-C. STURDE, D. HEIMANN
Vergleichende Untersuchungen zur Frühidentifizierung von Dermatophyten in Erstkulturen. Mykosen 8,: 93-100 (1965)

92. SABOURAUD, R.
Les Teignes. Masson et Cie. Paris (1910)

93. SCHAULOW, I.
Über den praktischen Wert einiger Untersuchungsmethoden in der mykologischen Diagnostik. Derm. Wschr. 149,: 81-90 (1964)

94. SCHICK, G.
Dimorphismus bei Trichophyton mentagrophytes bei 25 - 37°C. Mykosen 12,: 567-571 (1969)

95. SCHÖNBORN, CH.
Zur Bedeutung von Milieufaktoren für die Merkmalsausbildung von Trichophyton rubrum-Stämmen. Mykosen 13,: 457-466 (1970)

96. SCHÖNBORN, CH.
Über Varianten von Trichophyton rubrum. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 219,: 378-389 (1972)

97. STOCKDALE, P. M.
Nutritional requirements of the dermatophytes. Biol. Rev. 28,: 84-104 (1953)

98. TATE, P. — On the enzymes of certain dermatophytes or ringworm fungi. Parasitology 21,: 31-54 (1929)

99. THURNER, J. — Studien über das keratinolytische Vermögen der Dermatophyten. I. Mitteilung. Arch. klin. exp. Derm. 224,: 186-215 (1966)

100. TURNER, W. E., W. KAPLAN — The development and evaluation of immunodiffusion, immunofluorescence and physiological tests for the differentiation of atypical Trichophyton rubrum and Trichophyton mentagrophytes isolates. Mycopathologia (Den Haag) 53,: 183-200 (1974)

101. UECKERT, S., H. UECKERT — Über physiologische Wuchsformen bei Dermatophyten. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 178,: 236-249 (1960)

102. UECKERT, H., G. RÖHRBORN — Über Variabilität bei Dermatophyten. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 178,: 124-134 (1960)

103. VANBREUSEGHEM, R. — La culture des dermatophytes in vitro sur des cheveux isolés. Ann. Parasit. hum. comp. 24,: 559-573 (1949)

104. VANBREUSEGHEM, R. Keratin digestion by dermatophytes: A specific diagnostic method. Mycologia 44,: 176-182 (1952)

105. VELTMAN, G., TH. HEYMER, CHEN-SHOU TCHOU Vergleichende epidemiologische Untersuchungen an Dermatomykosen in den Städten Würzburg und Bonn und ihrer Einzugsgebiete. Mykosen 10,: 63-72, 123-130, 163-168 (1967)

106. VOLKONOVSKY, M. Sur la nutrition de quelques champignons saprophytes et parasites. Ann. inst. Pasteur 52,: 76-101 (1934)

107. DE VRIES, G. A. Keratinophilic fungi and their action. Antonie v. Leeuwenhoek 28,: 121-133 (1962)

108. WEARY, P. E., C. M. CANBY Further observations on the Keratinolytic activity of Trichophyton Schoenleinii and Trichophyton rubrum. J. invest. Derm. 53,: 58-63 (1969)

109. WEITGASSER, H.
Statistische Auswertung des Untersuchungsergebnisses der Pilzflora der Jahre 1969, 1970, 1971 im Dermatologischen Ambulatorium in Graz.
Mykosen 15,: 139-142 (1972)

110. WEITGASSER, H., H. DOBIDA, M. STROHMAYER
Statistische Auswertung des Untersuchungsergebnisses der Pilzflora des Jahres 1968 im Dermatologischen Ambulatorium in Graz.
Mykosen 12,: 133-137 (1969)

111. YOUNG, C. N.
Range of variation among isolates of Trichophyton rubrum.
Sabouraudia 10,: 164-170 (1972)

112. YU, R. J., S. R. HARMON, F. BLANK
Hair digestion by a Keratinase of Trichophyton mentagrophytes.
J. invest. Derm. 53,: 166-171 (1969)

113. ZIEGLER, H.
Die Ekto-Enzyme der Dermatomyzeten.
1. Mitteilung: Hemmungsanalysen.
Derm. Wschr. 151,: 577-593 (1965)

114. ZIEGLER, H.
Vergleichende Untersuchungen über den Stoffwechsel von Schimmelpilzen und Dermatophyten (1. Mitteilung). Z. allg. Mikrobiol. 6,: 74-85 (1966)

115. ZIEGLER, H.
Die Ektoenzyme der Dermatophyten . II. Mitteilung: pH-Abhängigkeit der Aktivität und Substratspezifität, unter besonderer Berücksichtigung der o-Phosphorsäuremonoesterphosphohydrolase sowie der Proteinasen und Keratinase. Arch. klin. exp. Derm. 226,: 282-299 (1966)

116. ZIEGLER, H., H. BÖHME
Untersuchungen über den Stoffwechsel der Dermatomyzeten. Mykosen 5,: 1-17 (1962)

117. ZIEGLER, H., H. BÖHME
Über den Stoffwechsel der Gattung Microsporum Gruby (1843). Arch. klin. exp. Derm. 218,: 611-631 (1964)

118. ZIEGLER, H., K. RICHTER
Die Biochemie des Keratinabbaues durch Dermatomyzeten. Derm. Wschr. 151,: 744-749 (1965)

119. ZIPRKOWSKI, L., A. KRAKOWSKI, B. SOMMER

Liquid Sabouraud's medium for the differentiation of Trichophyton rubrum and Trichophyton mentagrophytes. Mykosen 10,: 315-318 (1967)

Herrn Professor Dr. W. Adam
möchte ich an dieser Stelle
meinen besonderen Dank aussprechen
für die Überlassung des Themas,
die wohlwollende Unterstützung
und die fachliche Beratung
bei der Abfassung dieser Arbeit.

Herrn Professor Dr. G. Polemann
danke ich für die Durchsicht des
Manuskripts und die Berichter-
stattung.

Frau K. Steitz danke ich
für ihre freundliche Mithilfe
und sachlichen Ratschläge bei
der Durchführung der Versuche.

L e b e n s l a u f

Am 6. Januar 1950 wurde ich, Ulrich Schmid, als Sohn des Zahnarztes Dr. Richard Schmid und seiner Ehefrau Anneliese, geb. Higi, in Tübingen geboren.

Nach vierjähriger Grundschule besuchte ich von 1960 bis 1969 das Friedrich-List-Gymnasium in Reutlingen. Dort legte ich im Juni 1969 die Reifeprüfung ab.

Im Sommersemester 1970 begann ich an der Universität Tübingen das Studium der Zahnheilkunde. Im März 1971 bestand ich die naturwissenschaftliche und im Oktober 1972 die zahnärztliche Vorprüfung.

Nach Abschluß des Staatsexamens am 11. Juni 1975 erhielt ich die Bestallung als Zahnarzt.